

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

**ISABEL BOGER BUBANS GERKE**

**EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hill)  
CLARIFICADO: EXTRAÇÃO EM BATELADA E PROCESSAMENTO POR  
MEMBRANAS**

CURITIBA

2016

ISABEL BOGER BUBANS GERKE

**EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hill)  
CLARIFICADO: EXTRAÇÃO EM BATELADA E PROCESSAMENTO POR  
MEMBRANAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, no Curso de Pós-Graduação de Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Vitor Renan da Silva  
Co-orientadora: Dr<sup>a</sup>. Agnes de Paula Scheer

CURITIBA

2016

---

G369e

Gerke, Isabel Boger Bubans

Extrato aquoso de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) clarificado :  
extração em batelada e processamento por membranas/ Isabel Boger  
Bubans Gerke. – Curitiba, 2016.  
83 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia,  
Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2016.

Orientador: Vitor Renan da Silva – Co-orientador: Agnes de Paula  
Scheer.

Bibliografia: p. 71-81.

1. Erva-mate. 2. Compostos fenólicos. 3. Alcalóides. 4. Filtros e filtração.  
5. *Ilex paraguariensis*. I. Universidade Federal do Paraná. II. Silva, Vitor  
Renan da. III. Scheer, Agnes de Paula. IV. Título.

CDD: 583.85


---


**ISABEL BOGER BUBANS GERKE**

**EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hill) CLARIFICADO: EXTRAÇÃO EM BATELADA E PROCESSAMENTO POR MEMBRANAS**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientador:

  
Prof. Dr. VITOR RENAN DA SILVA  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof. Dr. FERNANDO AUGUSTO PEDERSEN VOLL  
PPGEQ/Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 29 de fevereiro de 2016.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, autor e consumidor da minha fé, por me capacitar e dar forças em todo o tempo. A Ele toda Honra e toda a Glória!

Aos meus pais, Horst e Cristiane, por todo o sacrifício feito para que hoje pudesse estar aqui e pelo apoio em todos os momentos. Aos meus irmãos, Guilherme e Augusto, por sempre torcerem por mim e proporcionarem momentos tão agradáveis em família.

Ao meu esposo Tiago por me incentivar e lutar comigo a cada dia, aguentando a distância e as dificuldades desse caminho, essa conquista é nossa!

Ao meu orientador, Vítor Renan da Silva, pelo apoio, ensino e auxílio durante toda a pesquisa. Por acreditar em mim e por não medir esforços para que o trabalho fosse aprimorado ao longo do tempo, aprendi muito.

A minha co-orientadora, Agnes de Paula Scheer, pelo acolhimento e preocupação mesmo estando longe e por permitir que esse trabalho pudesse ser realizado.

Ao PPGEAL pela oportunidade de aprender, realizar a pesquisa e aprimorar minha formação.

A minha amiga e colega Danielli por me acolher e proporcionar momentos tão agradáveis durante todo o mestrado. Aos amigos e colegas da Pós-Graduação: Gabriel, Madeline, Marlene e Mônica meu sincero agradecimento por todo o convívio e auxílio durante a caminhada. Aos demais colegas, muito obrigada por tudo.

A Fabiane Hamerski pelo convívio e por toda ajuda durante os experimentos, muito obrigada.

A empresa Vier Ltda por fornecer a erva-mate para a pesquisa.

## RESUMO

O interesse da população em consumir produtos naturais livres de aditivos tem aumentado a necessidade de se explorar novas tecnologias de processamento. Os chás do tipo pronto para beber, constituídos basicamente por extratos de ervas, estão entre estes produtos e têm conquistado o mercado. A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma opção de matriz vegetal utilizada para este fim por conter compostos bioativos que trazem benefícios à saúde. O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de obtenção de um extrato de erva-mate clarificado para uso na indústria de bebidas. A erva-mate foi caracterizada e submetida à extração aquosa em batelada. A influência da temperatura e da agitação na extração de sólidos totais, fenólicos totais e bioativos (ácido 5-cafeoilquínico, rutina, cafeína e teobromina) foi avaliada através de um delineamento composto central 2<sup>2</sup> em dois blocos: erva-mate moída e cancheada. Cada ensaio foi conduzido na forma de cinética de extração com tempo máximo de 180 minutos. Os modelos de transferência de massa de convecção externa e difusivo foram ajustados aos dados cinéticos referentes aos compostos bioativos. A clarificação do extrato bruto foi avaliada em três membranas diferentes (cerâmica, polieterimida e polietersulfona) através de ensaios em sistema fechado. A cinética da clarificação em regime de batelada foi realizada para a microfiltração em membrana de polieterimida. O processo de clarificação foi avaliado por meio da determinação do fluxo de permeado, fator de concentração, coeficiente de rejeição e transmitância. Os modelos de bloqueio de poro foram ajustados aos dados do ensaio cinético que também foram avaliados por meio do modelo de resistências em série. A temperatura e a agitação foram significativas no processo de extração para todas as respostas avaliadas, melhor condição: 80 °C e 400 rpm. O tempo também influenciou significativamente o rendimento da extração, onde os maiores teores de compostos bioativos foram encontrados no tempo máximo de extração (180 minutos). O modelo difusivo apresentou melhor ajuste aos dados. Todas as membranas utilizadas removeram 100% da turbidez do extrato bruto, porém a cerâmica apresentou maior retenção de compostos bioativos seguida pela de polietersulfona e polieterimida. A microfiltração com membrana de polieterimida em batelada apresentou fluxos de permeado estáveis mesmo com redução de 50% do volume inicial e pode ser operacionalizada aproximando-se de uma operação de clarificação em regime estacionário. Os coeficientes de rejeição para os compostos bioativos foram pequenos (<8,0%) e os de transmitância foram altos (>90,0%), indicando que estes compostos não se depositaram na superfície da membrana. A resistência devido à concentração por polarização foi predominante no processo. O modelo de bloqueio de poro parcial apresentou melhor ajuste aos dados experimentais ( $R^2 = 0,98$ ) seguido pelo bloqueio superficial ( $R^2 = 0,94$ ) e torta filtrante ( $R^2 = 0,85$ ). A produção de extrato clarificado de erva-mate visando a fabricação de chás do tipo pronto para beber pode ser viabilizada por meio de extração em batelada e microfiltração, rendendo um produto final com altos teores de compostos bioativos.

Palavras-chave: erva-mate; compostos fenólicos; metilxantinas; microfiltração; ultrafiltração.

## ABSTRACT

The population interest in consuming natural, additives free, products increased the need to exploit new processing technologies. Ready to drink teas, constituted basically by herbal extracts, are among these products and have conquering the market. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is an option of raw material used for this purpose because contains bioactive compounds providing health benefits. The objective of this work was to study the obtaining process of cleared yerba mate extract used in the beverage industry. The yerba was characterized and subjected to batch liquid extraction. The temperature and agitation influence at the extraction of solids and phenolic compounds (5-caffeoylquinic acid, rutin, caffeine and theobromine) was evaluated using a central composite design  $2^2$  in two blocks: milled and cancheada yerba mate. Each test was conducted as kinetics extraction with a maximum time of 180 minutes. The external convection and diffusion mass transfer models were adjusted to bioactive compounds kinetic data. The clarification of the crude extract was evaluated by three different membranes (ceramic, polyetherimide and polyethersulfone) through tests in a total recycling mode. The batch clarification kinetics was held for microfiltration polyetherimide membrane. The clarification process was assessed by the determination of permeate flux, concentration factor, rejection and transmittance coefficient. The pore blocking models were adjusted to kinetic data were also evaluated by resistance in series model. The temperature and agitation were significant in the extraction process for all measured responses, better conditions: 80 °C and 400 rpm. The time also significantly influenced the performance of the extraction, where the highest levels of bioactive compounds were found at the maximum extraction time (180 minutes). The diffusive model showed the best fit to the data. All membranes removed 100% turbidity of the crude extract, but the ceramics showed greater bioactive compounds retention followed by the polyethersulfone and polyetherimide. The polyetherimide microfiltration membrane batch shows stable permeate flux even with 50% of the initial bulk, which can be operated closer to a steady clarification operation. Bioactive compounds rejection coefficients were small (<8.0%) and the transmittance was high (>90.0%), indicating that these compounds were not deposit on the membrane surface. The resistance due concentration by polarization was predominant in the process. The partial pore blocking model showed the best fit to the experimental data ( $R^2 = 0.98$ ) followed by surface blocking ( $R^2 = 0.94$ ) and filter cake ( $R^2 = 0.85$ ). The clarified yerba mate extract production aiming ready to drink tea fabrication can be made possible by batch extraction and microfiltration, yielding a final product with high levels of bioactive compounds.

Keywords: yerba mate, phenolic compounds, methylxanthines, microfiltration, ultrafiltration.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1 - <i>Ilex paraguariensis</i> .....	16
FIGURA 3.2 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO 5-CAFEOLQUÍNICO (ESQUERDA) E DA RUTINA (DIREITA) .....	19
FIGURA 3.3 - ESTRUTURA QUÍMICA DA CAFEÍNA (ESQUERDA) E TEOBROMINA (DIREITA) .....	20
FIGURA 3.4 - ESQUEMA DO PROCESSO GERAL DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS.....	25
FIGURA 3.5 - CARACTERÍSTICAS DOS PROCESSOS QUE UTILIZAM DIFERENÇA DE PRESSÃO COMO FORÇA MOTRIZ.....	26
FIGURA 3.6 - QUEDA DO FLUXO DE PERMEADO AO LONGO DO TEMPO DEVIDO À POLARIZAÇÃO POR CONCENTRAÇÃO E <i>FOULING</i> ....	29
FIGURA 4.1 - ESQUEMA DAS ETAPAS DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DO EXTRATO DE ERVA-MATE CLARIFICADO .....	32
FIGURA 4.2 - UNIDADES EXPERIMENTAIS DE MICRO E ULTRAFILTRAÇÃO COM MEMBRANAS POLIMÉRICAS (ESQUERDA) E MICROFILTRAÇÃO COM MEMBRANA CERÂMICA (DIREITA).....	39
FIGURA 4.3 - MODO DE OPERAÇÃO DO PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO EM SISTEMA FECHADO.....	42
FIGURA 4.4 - MODO DE OPERAÇÃO DO PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO EM BATELADA .....	43
FIGURA 5.1 - DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA ERVA-MATE CANCHEADA (ESQUERDA) E MOÍDA (DIREITA).....	47
FIGURA 5.2 - CURVAS CINÉTICAS DO TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS (RESÍDUO SECO) DOS EXTRATOS OBTIDOS PARA AS CONDIÇÕES DETERMINADAS PELO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL. ERVA- MATE CANCHEADA (ESQUERDA) E MOÍDA (DIREITA).....	49
FIGURA 5.3 - CURVAS CINÉTICAS DO TEOR FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS OBTIDOS PARA AS CONDIÇÕES DETERMINADAS PELO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL. ERVA-MATE CANCHEADA (ESQUERDA) E MOÍDA (DIREITA) .....	49



FIGURA 5.4 - GRÁFICOS DE PARETO PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS DOS EXTRATOS OBTIDOS COM ERVA-MATE CANCHEADA FRENTE AS VARIAÇÕES DE TEMPERATURA E AGITAÇÃO. A) 30 MINUTOS; B) 180 MINUTOS .....	54
FIGURA 5.5 - SUPERFÍCIES DE CONTORNO PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS DOS EXTRATOS OBTIDOS COM ERVA-MATE CANCHEADA. A) 30 MINUTOS; B) 180 MINUTOS .....	55
FIGURA 5.6 - CURVAS CINÉTICAS DOS COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NO EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE CANCHEADA OBTIDO NAS CONDIÇÕES DE 80 °C E 400 RPM.....	56
FIGURA 5.7 - AJUSTE DOS MODELOS CONVECTIVO (ESQUERDA) E DIFUSIVO (DIREITA) PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS OBTIDOS DA EXTRAÇÃO AQUOSA DE ERVA-MATE EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E AGITAÇÃO <sup>1</sup> .....	60
FIGURA 5.8 - FLUXO DE PERMEADO NAS DIFERENTES MEMBRANAS E PRESSÕES DE OPERAÇÃO .....	61
FIGURA 5.9 - PERFIL DE FLUXO DE PERMEADO E FATOR DE CONCENTRAÇÃO PARA MICROFILTRAÇÃO EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA (P=0,02 MPA).....	64
FIGURA 5.10 - VARIAÇÃO DOS COEFICIENTES DE REJEIÇÃO (ESQUERDA) E TRANSMITÂNCIA (DIREITA) PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS DURANTE A MICROFILTRAÇÃO EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA (P=0,02 MPA).....	65
FIGURA 5.11 - AJUSTE DOS MODELOS DE BLOQUEIO DE POROS PARA A MICROFILTRAÇÃO DE EXTRATO DE ERVA-MATE EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA .....	68

## LISTA DE TABELAS

TABELA 4.1 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DA EXTRAÇÃO AQUOSA DE ERVA-MATE .....	33
TABELA 4.2 - CARACTERÍSTICAS DAS MEMBRANAS .....	41
TABELA 5.1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA ERVA-MATE .....	47
TABELA 5.2 - TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS ENCONTRADOS NA ERVA-MATE .....	48
TABELA 5.3 - TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS (MG.L <sup>-1</sup> ) NO EXTRATO DE ERVA-MATE NAS DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO (TEMPO-30 MINUTOS) <sup>1</sup> .....	51
TABELA 5.4 - TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS (MG.L <sup>-1</sup> ) NO EXTRATO DE ERVA-MATE NAS DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO (TEMPO-180 MINUTOS) <sup>1</sup> .....	51
TABELA 5.5 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS AO LONGO DO TEMPO NO EXTRATO DE ERVA-MATE CANCHEADA OBTIDO NAS CONDIÇÕES DE 80 °C E 400 RPM <sup>1</sup> .....	57
TABELA 5.6 - AJUSTE DOS MODELOS CINÉTICOS DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA ERVA-MATE <sup>1</sup> .....	59
TABELA 5.7 - PERMEABILIDADE HIDRÁULICA DAS DIFERENTES MEMBRANAS UTILIZADAS .....	62
TABELA 5.8 - COEFICIENTES DE REJEIÇÃO DE TURBIDEZ E COMPOSTOS BIOATIVOS NAS DIFERENTES MEMBRANAS.....	63
TABELA 5.9 - VARIAÇÃO DO FLUXO DE PERMEADO AO LONGO DO TEMPO EM RELAÇÃO AO FATOR DE CONCENTRAÇÃO (FC) DURANTE A CLARIFICAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DA ERVA-MATE EM REGIME DE BATELADA .....	64
TABELA 5.10 - VALORES ESTIMADOS DAS RESISTÊNCIAS DO PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO .....	66
TABELA 5.11 - PARÂMETROS DOS MODELOS DE BLOQUEIO DE POROS PARA A MICROFILTRAÇÃO DE EXTRATO DE ERVA-MATE EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA.....	66

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\Delta m$	— massa de permeado coletada durante o tempo (kg)
$\Delta P$	— pressão transmembrana aplicada
$\mu$	— viscosidade da solução que permeia a membrana (Pa.s)
$\mu_w$	— viscosidade da água (Pa.s)
$C$	— concentração do soluto na fase líquida (mg.L <sup>-1</sup> )
$C_{eq}$	— concentração do soluto na fase líquida no equilíbrio (mg.L <sup>-1</sup> )
$C_p$	— concentração do soluto na corrente de permeado (mg.L <sup>-1</sup> )
$CR$	— coeficiente de rejeição (%)
$C_B$	— concentração do soluto na corrente de alimentação (mg.L <sup>-1</sup> )
$C_R$	— concentração do soluto na corrente de retentado (mg.L <sup>-1</sup> )
$D$	— coeficiente de difusão para o soluto no solvente (mm <sup>2</sup> .min <sup>-1</sup> )
$D_{p,i}$	— tamanho da abertura da peneira i (mm)
$D_{P,Volume}$	— diâmetro médio das partículas com base no volume (mm)
$FC$	— fator de concentração
$EM$	— erro médio paramétrico
$J^*$	— fluxo de permeado no equilíbrio (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )
$J_0$	— fluxo de permeado no tempo zero (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )
$J_{LIM}$	— fluxo de permeado no último minuto de operação (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )
$J_p$	— valor de fluxo de permeado (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )
$J_w$	— fluxo de permeado com água microfiltrada para a membrana limpa (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )
$J'_w$	— fluxo de permeado com água microfiltrada para a membrana suja (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )
$k$	— coeficiente de transferência de massa (min <sup>-1</sup> )
$K_n$	— coeficiente experimental de bloqueio de poro
$m$	— massa de erva submetida à extração (g)
$m_I$	— massa de extrato alimentada no início do processo (kg)
$m_p$	— massa de permeado acumulada durante um período de tempo (kg)

$M$	— massa de soluto transferida do sólido no tempo (mg)
$M_{\infty}$	— massa de soluto transferida após um tempo infinito (mg)
$n$	— coeficiente experimental que determina o mecanismo de bloqueio de poros
$N$	— fluxo de massa do soluto ( $\text{mg.g}^{-1}.\text{mm}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )
$P_H$	— permeabilidade hidráulica ( $\text{kg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ )
$R$	— raio da partícula sólida (mm)
$R_T$	— resistência total ao processo de filtração ( $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$ )
$R_M$	— resistência específica da membrana ( $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$ )
$R_F$	— resistência devido à formação de <i>fouling</i> (irreversível) ( $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$ )
$R_p$	— resistência devido à camada de polarização (efeito da polarização por concentração e formação da torta na superfície da membrana) ( $\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$ )
$S$	— área superficial da membrana ( $\text{m}^2$ )
$SQR$	— soma dos quadrados dos resíduos
$t$	— tempo (min e h)
$Tr$	— coeficiente de transmissão ou transmitância
$v$	— volume de água total utilizado na extração (L)
$x$	— distância na direção da difusão (mm)
$X$	— concentração do soluto no sólido ( $\text{mg.g}^{-1}$ )
$X_0$	— concentração inicial do soluto no sólido ( $\text{mg.g}^{-1}$ )
$X_{eq}$	— concentração do soluto no sólido no equilíbrio ( $\text{mg.g}^{-1}$ )
$y_i$	— fração de partículas retidas na peneira de diâmetro $i$
$y_i^{EXP}$	— valor experimental da variável analisada
$y_i^{CALC}$	— valor da variável analisada estimado pelos modelos matemáticos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
3.1	ERVA-MATE .....	16
3.1.1	Processamento da Erva-Mate.....	17
3.1.2	Composição Química da Erva-Mate.....	17
3.1.2.1	Compostos Bioativos.....	18
3.1.3	Consumo da Erva-Mate: Tradicional e Alternativo .....	21
3.2	TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE EXTRATOS E SUA APLICAÇÃO EM BEBIDAS.....	21
3.2.1	Extração Sólido-Líquido .....	22
3.3	PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS (PSM) .....	24
3.3.1	Fenômenos que Limitam o Fluxo de Permeado.....	28
3.4	CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	29
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
4.1	MATERIAL .....	31
4.1.1	Erva-Mate.....	31
4.1.2	Reagentes.....	31
4.2	MÉTODOS .....	31
4.2.1	Caracterização da amostra .....	32
4.2.2	Extração Sólido-Líquido .....	33
4.2.3	Procedimentos Analíticos.....	34
4.2.3.1	Teor de Sólidos Totais .....	34
4.2.3.2	Compostos Fenólicos Totais .....	34
4.2.3.3	Avaliação dos Compostos Bioativos .....	35
4.2.3.4	Estimativa do Teor Total de Compostos Bioativos .....	36
4.2.4	Estudo Cinético do Processo de Extração Sólido-Líquido .....	36
4.2.5	Clarificação do Extrato Aquoso de Erva-mate por Processo de Separação por Membranas .....	38

4.2.5.1	Ensaio de Microfiltração e Ultrafiltração em Regime Fechado .....	41
4.2.5.2	Estudo Cinético do Processo de Clarificação por Membranas Porosas.....	42
4.2.5.3	Análise das Resistências em Série .....	43
4.2.5.4	Modelo do Bloqueio de Poros .....	44
4.2.6	Análises Estatísticas .....	46
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>47</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	47
5.2	EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO .....	48
5.2.1	Avaliação da Influência da Temperatura e Agitação na Extração de Compostos Bioativos .....	52
5.2.2	Cinética da Extração de Compostos Bioativos.....	56
5.2.3	Análise da Cinética de Extração .....	57
5.3	CLARIFICAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE POR MEMBRANAS POROSAS .....	61
5.3.1	Microfiltração e Ultrafiltração em Sistema Fechado .....	61
5.3.2	Cinética da Microfiltração em Batelada .....	63
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>82</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) é cultivada e consumida predominantemente nos países sul-americanos: Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai. No Brasil a atividade ervateira predomina na Região Sul, sendo um importante produto agroindustrial para a região. Segundo dados do IBGE (2013) e EMBRAPA (2014), a cadeia produtiva da erva-mate obteve um valor de produção de R\$ 406 milhões em 2013, empregando cerca de 700 mil colaboradores. Os principais usos da erva-mate são no chimarrão, tererê e chá mate.

A composição química da erva-mate é complexa e conta com compostos bioativos como alcalóides (metilxantinas), saponinas e compostos fenólicos. A ingestão de compostos fenólicos, antioxidantes naturais, auxilia na prevenção de doenças causadas pelo estresse oxidativo como o câncer, osteoporose e doenças cardiovasculares.

A crescente preocupação dos consumidores com bem-estar e saúde tem feito com que as empresas de bebidas invistam no segmento de funcionais que já cresce cinco vezes mais que o dos refrigerantes tradicionais. Os chás estão entre as principais categorias de bebidas comerciais consumidas no Brasil em 2008, representando juntamente com o café um consumo de 45 L por habitante/ano (VENTURINI FILHO, 2011). Neste sentido, o consumo e interesse em bebidas que contém extratos de ervas tem aumentado nos últimos anos.

Os chás do tipo pronto para beber apresentam instabilidade devido ao desenvolvimento de uma espécie de neblina e formação de creme que ocorre por meio de interações entre moléculas presentes no produto. As indústrias têm utilizado estabilizantes ou processos de clarificação convencional com uso de enzimas para evitar este problema tecnológico. Porém, essas medidas impedem que o produto seja totalmente natural e, ainda, podem causar perdas de compostos de interesse e propriedades sensoriais.

O emprego de novas tecnologias no desenvolvimento da cadeia agroindustrial da erva-mate visa à melhoria da qualidade dos produtos comercializados. Neste contexto, os processos de separação por membranas apresentam-se como tecnologias emergentes, nos quais, empregamos uma barreira seletiva que restringe a passagem de um determinado componente, permitindo a passagem de outro. O uso de membranas de microfiltração e ultrafiltração possibilita o tratamento de

diversos produtos da área de alimentos, dentre os quais sucos e extratos aquosos de frutas e vegetais, para fins de clarificação e pasteurização a frio.

A produção de chás do tipo pronto para beber está em crescimento e constitui um mercado promissor. Portanto, pesquisas que visam otimizar o processo de obtenção e clarificação de bebidas como estas são necessárias. Além disso, procura-se reduzir custos ao mesmo tempo em que se garante a presença de compostos que trazem benefícios à saúde. O estudo do processo de produção de um extrato de erva-mate verde, para uso na indústria de bebidas, pode viabilizar a inserção de um novo produto com alto valor agregado, tendo em vista que atualmente no mercado brasileiro existem apenas chás de mate tostado.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar um processo de obtenção de extrato aquoso clarificado de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) com baixa perda de compostos bioativos para uso na indústria de bebidas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudar a influência de variáveis de processo na extração aquosa da erva-mate cancheada e moída em batelada.

Estudar a cinética do processo de extração aquosa da erva-mate em batelada.

Estudar a variável pressão nos processos de microfiltração e ultrafiltração tangencial com diferentes membranas, em regime de reciclo total.

Avaliar o comportamento cinético do processo de clarificação do extrato aquoso de erva-mate por microfiltração tangencial em regime de batelada.

Avaliar os efeitos resistivos do processo de microfiltração em regime de batelada.

Avaliar os modelos cinéticos que descrevem o perfil de fluxo de permeado ao longo do tempo durante a clarificação do extrato aquoso de erva-mate por microfiltração tangencial em regime de batelada.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 ERVA-MATE

A erva-mate é uma árvore pertencente à família Aquifoleaceae que pode chegar a uma altura de 18 metros e é originária da América do Sul. Encontrada principalmente na região sul, que abrange Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai. O nome botânico, *Ilex paraguariensis* St. Hill., foi definido pelo naturalista francês August de Saint Hilaire durante suas viagens pelo sul do Brasil em 1820 (FIGURA 3.1) (COSTA, 1989; HECK E MEJIA, 2007; DANIEL, 2009).



FIGURA 3.1 - *Ilex paraguariensis*  
FONTE: BERTÉ, RUCKER E HOFFMANN-RIBANI (2011).

No Brasil, a plantação de erva-mate na região Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) e Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul) representa uma atividade agrícola de grande importância econômica e em crescimento nos últimos anos. De 2008 a 2013, houve um aumento de mais de 18 % da quantidade produzida, mesmo com uma redução de cerca de 5 % da área plantada no mesmo período. Estima-se que a área total destinada à exploração e cultivo de erva-mate seja de 700 mil hectares (ha) distribuídos em cerca de 180 mil propriedades localizadas em aproximadamente 480 municípios. A produção de erva-mate em 2013 alcançou um valor de R\$ 406 milhões, gerando aproximadamente 700 mil empregos (IBGE, 2013; EMBRAPA, 2014).

Na região Sul do país, a maior parte da produção está concentrada no Paraná (450.318 t), seguido pelo Rio Grande do Sul (284.698 t) e Santa Catarina

(120.423 t). O Paraná possui a maior plantação de ervais nativos que é de grande interesse por proporcionar melhor sabor ao produto final. A produção de erva-mate está presente em 151 municípios do Estado, concentrando-se nos núcleos regionais do sul: União da Vitória, Irati, Guarapuava, Ponta Grossa e Pato Branco (SEAB, 2014).

### 3.1.1 Processamento da Erva-Mate

O processamento da erva-mate *in natura* (folhas, ramos e galhos) é feito basicamente em dois ciclos: o do cancheamento, composto pelo sapeco, secagem e fragmentação, e o do beneficiamento que conta com as etapas de soque, separação e mistura (ROCHA JÚNIOR, 2001).

O sapeco consiste na passagem rápida de folhas/ramos por uma chama decorrente da queima de lenha e deve ser feito no mesmo dia da colheita da matéria-prima para evitar perda de qualidade do produto. Nesta etapa ocorre a inativação de enzimas (peroxidases e polifenoloxidasas) responsáveis pelo escurecimento e perda de umidade do material. (DANIEL, 2009; EMBRAPA, 2014).

A erva é desidratada através de fogo indireto, perdendo cerca de 60% de massa. A secagem pode ser feita em secadores de esteira ou rotativo que são de secagem lenta e rápida, respectivamente (ESMELINDRO *et al.*, 2002; EMBRAPA, 2014). Em seguida, a erva é triturada e passa por um peneiramento. Após esse processo, o produto é denominado erva “cancheada” e pode ser utilizado como matéria-prima para a produção de chás (ESMELINDRO *et al.*, 2002). A obtenção do produto denominado erva-mate se dá pelo processo de beneficiamento que consiste em uma moagem fina (soque), separação das partículas por tamanho e mistura das proporções desejadas (ROCHA JÚNIOR, 2001).

### 3.1.2 Composição Química da Erva-Mate

As plantas produzem compostos químicos que são divididos em metabólitos primários e secundários. Os primários são responsáveis pela sobrevivência do vegetal, permitindo a ocorrência de processos essenciais como a fotossíntese e a

respiração. Os secundários estão relacionados basicamente à adaptação e propagação da planta, sendo responsáveis pela defesa contra herbívoros e microorganismos, proteção contra raios UV e produção de cor e aroma para atrair insetos polinizadores ou animais que espalham seus frutos (RAVEN, EVERT E EICHHORN, 2001; SIMÕES, 2004).

Entre os metabólitos primários encontram-se os açúcares simples, os aminoácidos, as proteínas e os ácidos nucleicos. Os metabólitos secundários são sintetizados em órgãos, tecidos ou células específicos em determinados estágios de desenvolvimento. Desta forma, não estão presentes uniformemente na planta e variam em quantidade e composição nos mais diversos vegetais. Existem três principais classes destes compostos: alcalóides, terpenóides e compostos fenólicos (RAVEN, EVERT E EICHHORN, 2001).

As folhas verdes de erva-mate são compostas basicamente de açúcares, proteínas, gorduras, fibras, vitaminas e sais minerais (ESMELINDRO *et al.*, 2002; GIULIAN *et al.*, 2007). Além disso, estudos relatam a presença de compostos bioativos como alcalóides (metilxantinas) (MEINHART *et al.*, 2010; CARDOZO JÚNIOR, *et al.*, 2007), saponinas (terpenóides) (COELHO *et al.*, 2010), compostos fenólicos (BASTOS *et al.*, 2006; BERTÉ *et al.*, 2011) e cerca de 200 espécies diferentes de compostos voláteis (KAWAKAMI; KOBAYASHI, 1991). A composição química da erva-mate está relacionada a características das espécies, posição e idade das folhas, condições de solo, clima e época de colheita (VALDUGA *et al.*, 1997).

#### 3.1.2.1 Compostos Bioativos

Compostos bioativos são os metabólitos secundários de plantas que apresentam efeitos farmacológicos ou toxicológicos em humanos e animais (BERNHOF, 2010). Dentre estes compostos, os compostos fenólicos e as metilxantinas têm sido muito estudados na erva-mate e seus extratos.

Os compostos fenólicos constituem uma das principais classes entre os metabólitos secundários e apresentam uma grande variedade de estruturas e funções. Estão distribuídos em todo o reino vegetal e acumulam-se em todas as partes das plantas (raízes, caules, folhas, flores e frutos) (RAVEN, EVERT E

EICHHORN, 2001). Estruturalmente, são compostos por um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxilas e variam desde fenóis simples até compostos altamente polimerizados (ROBBINS, 2003; HECK E MEJIA, 2007). Ácidos fenólicos, flavonóides e taninos são considerados os principais compostos fenólicos presentes na dieta humana (BALASUNDRAM, SUNDRAM E SAMMAN, 2005). Grande parte desses compostos é encontrada na forma de ésteres ou de heterosídeos que são solúveis em água e em solventes orgânicos polares (SIMÕES, 2004).

Os principais polifenóis encontrados na erva-mate são os derivados do ácido cafeico (ácido 5-cafeoilquínico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico, ácido 4,5-dicafeoilquínico) e os flavonóides (rutina, quercitina e kaempferol) (FILIP *et al.*, 2001; HECK, SCHMALKO E MEJIA, 2008; MARQUES E FARAH, 2009). Dentre estes, os mais relatados são ácido 5-cafeoilquínico (ácido quínico esterificado ao ácido cafeico) e rutina (flavonol glicosídico formado pela quercetina e um dissacarídeo) (FIGURA 3.2).

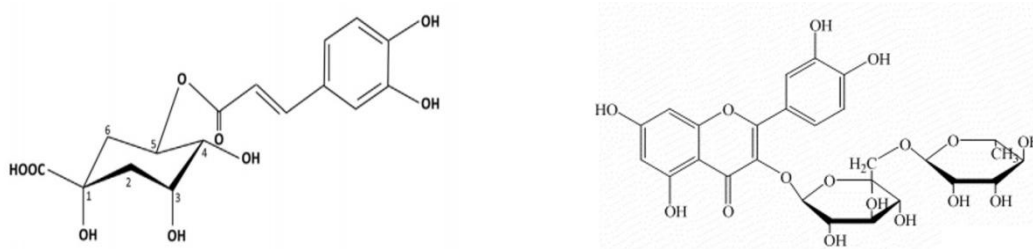


FIGURA 3.2 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO 5-CAFEOILQUÍNICO (ESQUERDA) E DA RUTINA (DIREITA)

FONTE: BAJKO *et al.* (2015); RIZZO *et al.* (2006).

Os compostos fenólicos podem ser considerados bioativos por apresentarem comportamento antioxidante, devido à sua capacidade de quelar metais, inibir a lipoxigenase e eliminar radicais livres (DECKER, 1997). A ingestão de antioxidantes naturais auxilia na prevenção de doenças, pois retardam os danos causados pelo estresse oxidativo aos componentes celulares (DNA, proteínas e lipídeos) e células somáticas que são responsáveis pelo surgimento de doenças degenerativas como o câncer, doenças cardiovasculares e osteoporose (SCALBERT *et al.*, 2005). Neste sentido, o efeitos benéficos do extrato de erva-mate na saúde humana como a ação anti-inflamatória, antimutagênica e no metabolismo de lipídeos, está relacionada aos compostos fenólicos presentes, incluindo o ácido 5-cafeoilquínico e a rutina (BRACESCO *et al.*, 2010), que têm sido reportados em diversos trabalhos

(CARDOZO JÚNIOR e MORAND, 2015; SOUZA *et al.*, 2015; ANESINI *et al.*, 2011; ISOLABELLA *et al.*, 2010).

As metilxantinas (alcalóides) são metabólitos secundários derivados da xantina. Deste grupo de compostos, são encontradas na erva-mate em maior quantidade a cafeína seguida por teobromina e teofilina em porções muito pequenas (HECK e MEJIA, 2007). As principais metilxantinas encontradas, cafeína e teobromina (FIGURA 3.3), atuam no sistema nervoso central e coração, aumentam a atividade cerebral e têm ação diurética (MEINHART *et al.*, 2010). Diversos estudos têm reportado a presença de cafeína e teobromina na erva-mate e seus extratos ou bebidas (MAZUR *et al.*, 2014; PEREIRA *et al.*, 2012; BERTÉ *et al.*, 2011; CARDOZO JÚNIOR *et al.*, 2007).

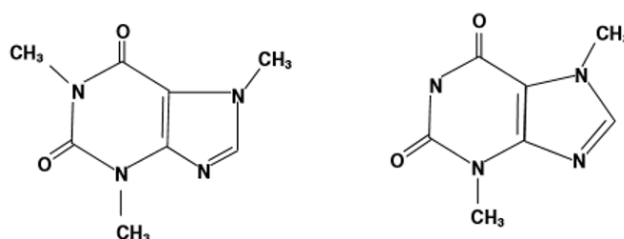


FIGURA 3.3 - ESTRUTURA QUÍMICA DA CAFEÍNA (ESQUERDA) E TEOBROMINA (DIREITA)  
FONTE: HECK e MEJIA (2007).

As bebidas preparadas a base de erva-mate são consideradas uma fonte de metilxantinas, o teor de cafeína e teobromina ingerido varia entre 25-175 mg e 6-28,5 mg, respectivamente, e depende da matéria-prima utilizada, forma de preparo e quantidade ingerida (CARDOZO JÚNIOR e MORAND, 2015). Meinhart *et al.* (2010) compararam os teores de cafeína e teobromina presentes em bebidas preparadas com erva-mate com outros produtos alimentícios. O conteúdo de cafeína presente em 100 mL de chimarrão e tererê correspondem, respectivamente, ao consumo de 10 e 24 mL de café expresso, 118 e 277 mL de refrigerante de cola, 34 e 80 mL de bebida energética. Em relação a teobromina, o consumo de 100 mL de chimarrão e tererê equivalem a 6,2 e 14,5 g de chocolate ao leite, respectivamente.

### 3.1.3 Consumo da Erva-Mate: Tradicional e Alternativo

O maior uso da erva-mate é no preparo de bebidas como chimarrão, chá mate e tererê. Dentre estes, o mais habitual é o chimarrão que consiste na infusão de água quente com erva-mate beneficiada em recipiente adequado (cuia ou poronga) e ingerida por aspiração através de uma cânula metálica (bomba). O chá mate é a infusão obtida pela escalda de folhas secas tostadas. O tererê é infusão tal como o chimarrão, porém feita em recipientes de chifre de bovino (guampa) e com água fria ou gelada (MACCARI JÚNIOR, 2005; DANIEL, 2009; VENTURINI FILHO, 2010; EMBRAPA, 2014).

Na indústria de alimentos faz-se necessário identificar qual é a posição do Mate como bebida leve e saudável, tanto no mercado interno como externo. A próxima década promete ser um marco para empresas da linha de chás, bebidas e alimentos prontos para o consumo. Portanto, a erva-mate deve ser explorada no que diz respeito à diversificação de produtos que além de chás de Mate quente ou frio, pode-se apostar no seu uso em energéticos e tererê em diferentes composições (RUCKER *et al.*, 2010).

## 3.2 TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE EXTRATOS E SUA APLICAÇÃO EM BEBIDAS

O consumo de bebidas que contém extratos de ervas tem crescido nos últimos anos devido ao apelo funcional que carregam, pois oferecem ao consumidor benefícios à saúde além de sua função primária, a hidratação. Os extratos podem ser obtidos de diversos tipos de matéria-prima e por diferentes métodos de extração. A erva utilizada deve ser selecionada de acordo com sua popularidade no meio em que a bebida será comercializada. O processo de extração empregado é do tipo sólido-líquido e possui diversos métodos (infusão, decocção, percolação, entre outros) e suas variações. Os extratos obtidos por infusão são os mais utilizados na produção de bebidas por sua facilidade de produção e baixo custo (ASHURST, 2005).

Na elaboração de produtos de chá do tipo pronto para beber, os extratos são muito utilizados, pois resultam em produtos de melhor qualidade (sabor e frescor) do

que os produzidos em pó (LEHMBERG *et al.*, 2000). Estas bebidas a base de chá são compostas basicamente por extrato ou chá em pó reconstituído, açúcar, suco, ácido cítrico e corantes para realçar aroma, sabor e cor. Além disso, vários aditivos são usados como agentes estabilizantes. Essa formulação de chá gelado não é ideal para o mercado alvo que é o consumidor em busca de alimentos livres de aditivos e com alto valor nutricional (TODISCO, TALLARICO e GUPTA, 2002).

Um dos maiores problemas encontrados na produção de chás do tipo pronto para beber é a instabilidade devido ao desenvolvimento de uma espécie de neblina e formação de creme, provenientes da interação entre moléculas como catequinas, cafeína, proteínas, pectina, polifenóis. Para evitar este problema tecnológico, as indústrias podem empregar aditivos (como estabilizantes) ou utilizar processos de clarificação por centrifugação/filtração utilizando enzimas para aumentar a solubilidade dos compostos. O emprego de estabilizantes e enzimas desagrade o consumidor que procura por produtos compostos exclusivamente por extratos naturais. O processo convencional de clarificação causa perdas de compostos de interesse e propriedades sensoriais (SUBRAMANIAN, CHANDINI E SHARMA, 2014; CHANDINI, SUBRAMANIAN e RAO, 2012; SIEBERT, 2009; TODISCO, TALLARICO e GUPTA, 2002; LIANG e XU, 2001). Portanto, torna-se necessário estudar tecnologias que viabilizem a produção de bebidas naturais, livres de aditivos e agradáveis sensorialmente.

### 3.2.1 Extração Sólido-Líquido

Extração sólido-líquido, ou lixiviação, é uma operação de separação utilizada para obter componentes de interesse de uma matriz sólida através do uso de um solvente apropriado. O processo consiste em uma dissolução seletiva, onde os compostos desejados, chamados de solutos ou analitos, são solúveis e o restante do material, tratado como inerte, é insolúvel (FOUST *et al.*, 1982).

A extração sólido-líquido é uma operação de transferência de massa que envolve diversos fenômenos. O processo inicia com a entrada do solvente para o interior do sólido, logo depois ocorre a difusão da solução rica no soluto para a interface sólido-líquido e, então, a passagem desta solução da superfície do sólido para a fase líquida por convecção (PRICE; SPITZER, 1993; JENSEN e ZANOELO,



2012). Além disso, os fenômenos de solubilidade e equilíbrio de fases interferem no processo juntamente com os mecanismos de transferência de massa. A taxa de difusão do soluto no solvente, por exemplo, determina o tempo necessário para atingir o equilíbrio entre as fases. E a solubilidade do soluto no solvente está diretamente relacionada à concentração de saturação e, portanto, ao máximo rendimento de extrato (TOLEDO, 2007).

Por causa dos diversos fenômenos envolvidos, a extração é influenciada por vários fatores como o tempo, a temperatura, a agitação, o tamanho das partículas do sólido e a proporção soluto:solvente. A variação destes fatores determina a qualidade e a consistência final do extrato. (WETTASINGHE e SHAHIDI, 1999; CACACE e MAZZA, 2003; ASHURST, 2005; BUCIĆ-KOJIĆ *et al.*, 2007).

O tempo de contato do sólido com o solvente deve ser suficiente para que o soluto dissolva no solvente até atingir a saturação da solução, o equilíbrio. Temperaturas mais altas aumentam a taxa de dissolução do soluto no solvente e a difusão do mesmo no meio (IBARZ e BARBOSA-CÁNOVAS, 2003). A temperatura da maior parte dos processos de extração na indústria alimentícia é limitada a 100 °C por razões econômicas, pela extração de compostos indesejáveis em temperaturas elevadas ou por danos aos componentes dos alimentos.

O tamanho das partículas do sólido determina sua área superficial que é diretamente proporcional à taxa de transferência de massa, assim, redução no tamanho das partículas (aumento da área superficial) aumenta a taxa de extração, porém, até certos limites (FELLOWS, 2006). A proporção soluto:solvente está diretamente relacionada ao custo-benefício da extração, pois não pode ser muito baixa, rendendo extratos de baixa concentração, nem muito alta, ocasionando perda de compostos desejáveis no resíduo (CASAZZA, ALIAKBARIAN e PEREGO, 2011).

A operação de extração sólido-líquido pode ser utilizada para diversos fins, no caso da produção de extratos de ervas com fins alimentícios, o objetivo desta etapa é remover das plantas o maior teor possível de sólidos solúveis, a fim de ter um extrato mais concentrado que possa ser aplicado na fabricação de bebidas (ASHURST, 2005).

Na literatura são encontrados diversos estudos com extratos de erva-mate obtidos e avaliados de diferentes maneiras. São comumente quantificados sólidos totais (SABBATELLA, POKOLENKO e SCHMALKO, 2009; LINARES *et al.*, 2010; JENSEN e ZANOELO, 2012), compostos fenólicos (FILIP *et al.*, 2001; CHANDRA e

MEJIA, 2004; BIXBY *et al.*, 2005; GUGLIUCCI e BASTOS, 2009), saponinas (COELHO *et al.*, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2013) e metilxantinas (CARDOZO JÚNIOR *et al.*, 2007). As extrações são conduzidas de formas diferentes como infusão total de folhas (GIULIAN *et al.*, 2007; HECK, SCHMALKO e MEJIA, 2008; PERES *et al.*, 2013) e do mesmo modo que chimarrão e tererê são produzidos tradicionalmente (SABBATELLA, POKOLENKO e SCHMALKO, 2009).

Em um estudo feito por Jenzen e Zanoelo (2012) a velocidade da extração aquosa de folhas de erva-mate por infusão foi avaliada. As variáveis do processo foram: temperatura (18 a 80 °C), tamanho de partícula ( $4,9 \times 10^{-4}$  a  $5,7 \times 10^{-4}$  m) e agitação (0 ou 200 rpm). Neste trabalho concluíram que na extração de sólidos solúveis da erva-mate a agitação pode ser negligenciada e que quanto maior temperatura e menor tamanho da partícula, maior será a extração.

Prudêncio *et al.* (2012) investigaram a condição de extração aquosa de resíduo de árvores de erva-mate que permite obter o maior teor de compostos fenólicos. A infusão foi feita na proporção de 1:100 (sólido:líquido), temperatura e tempo foram as variáveis estudadas nas faixas de 64,8 a 100,2 °C e 1,5 a 11,5 min. A condição de extração considerada ótima neste trabalho foi a de 85 °C e 1,5 min com teor aproximado de compostos fenólicos de 1,6 mg de equivalente em ácido clorogênico/mL, pois as maiores concentrações foram as obtidas na faixa de temperatura de 80 a 90 °C e como o tempo não foi uma variável significativa pode-se utilizar o menor nível estudado.

No trabalho desenvolvido por Bassani, Nunes e Granato (2014) foi avaliado o teor de compostos fenólicos de extratos de folhas de erva-mate tostadas em diferentes condições de tempo (5; 7,5 e 10 min) e temperatura (60; 75 e 90 °C). A condição encontrada para maximizar a extração de fenólicos foi a 90 °C por 10 min, resultando em um teor de 427,74 mg de equivalentes de ácido gálico por litro de extrato.

### 3.3 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS (PSM)

O processo de separação por membranas (PSM) é basicamente um processo de transferência de massa, onde a alimentação é constituída por uma mistura de dois ou mais componentes que é parcialmente separada através de uma barreira

semipermeável (membrana) em duas frações denominadas permeado e retentado (concentrado) (SEADER *et al.*, 2010). A representação de um PSM está apresentada de forma geral na FIGURA 3.4.

A membrana pode ser definida como uma barreira que separa duas fases restringindo, total ou parcialmente, o transporte de uma ou várias espécies presentes nas fases (PESSOA JÚNIOR e KILIKIAN, 2005). Essa separação é possível devido à sua capacidade de diferenciar as moléculas pelo tamanho e também, por sua composição química e estrutura, porém de forma menos intensa. Desta forma, a membrana é como uma barreira seletiva, aumentando a concentração de certos componentes da alimentação e diminuindo de outros (HELDMAN e LUND, 2007).

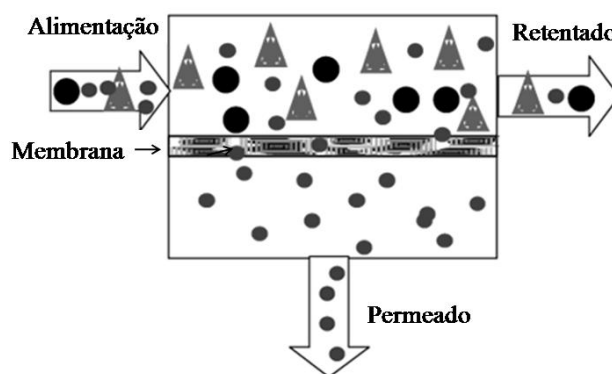


FIGURA 3.4 - ESQUEMA DO PROCESSO GERAL DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS  
 FONTE: Adaptado de HABERT, BORGES e NOBREGA (2006).

Os processos que utilizam a diferença de pressão como força motriz têm sido utilizados para concentrar, fracionar e purificar soluções diluídas, especialmente soluções aquosas (PESSOA JÚNIOR e KILIKIAN, 2005). Osmose inversa, nanofiltração, ultrafiltração e microfiltração são processos que utilizam a diferença de pressão através da membrana como força motriz. A diferença entre eles é a faixa de tamanho de partícula possível de separar, como apresentado na FIGURA 3.5 (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006).

Os PSM apresentam diversas vantagens como: economia de energia, alta seletividade, operação em temperatura ambiente, simplicidade de operação e ampliação de escala e, em grande parte dos casos, promovem a separação sem que ocorra mudança de fase. Por esses e outros motivos, esses processos têm se destacado frente às técnicas tradicionais de separação (HABERT, BORGES e

NOBREGA, 2006). A indústria de alimentos é responsável por um volume considerável do mercado de membranas no mundo todo, algumas aplicações são: esterilização a frio e/ou clarificação de bebidas, secagem e/ou concentração de soro de leite e sucos; fracionamento de proteínas e carboidratos (CUPERUS e NIJHUIS, 1993; DAUFIN, ESCUDIER e CARRÈRE, 2001; MOHAMMAD *et al.*, 2012).

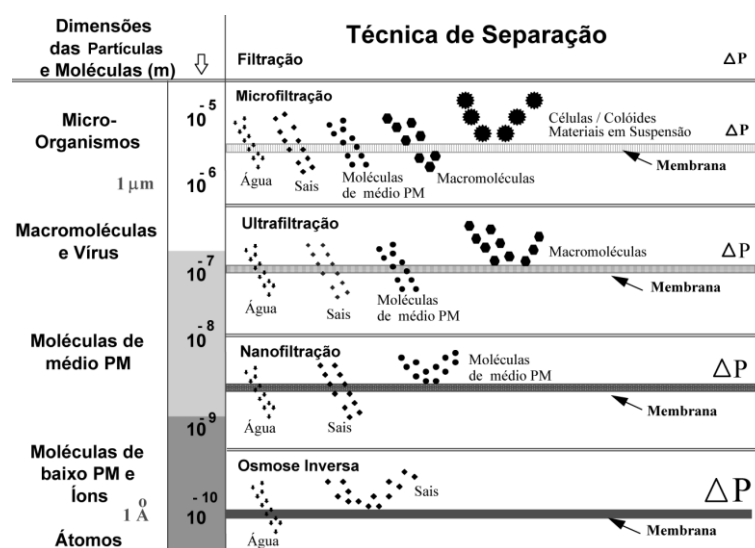


FIGURA 3.5 - CARACTERÍSTICAS DOS PROCESSOS QUE UTILIZAM DIFERENÇA DE PRESSÃO COMO FORÇA MOTRIZ

FONTE: HABERT, BORGES e NOBREGA (2006).

A microfiltração é um PSM com características entre a filtração tradicional e a ultrafiltração, utilizada na separação de partículas finas com tamanhos que variam entre 0,02 e 0,2  $\mu m$  (RIPPERGER e ALTMANN, 2002). Na indústria de alimentos é comumente aplicada na clarificação e esterilização de bebidas. Durante o processo, são removidos sólidos suspensos, gorduras e proteínas de alta massa molecular (INC, 2004).

Nas últimas décadas, a ultrafiltração tem sido amplamente utilizada na indústria de processamento de alimentos como ferramenta de separação e concentração (MOHAMMAD *et al.*, 2012). A indústria de laticínios, seguida pela de bebidas e de produtos a base de ovo são as que mais exploram esta tecnologia devido às suas vantagens em comparação aos processos tradicionais de concentração (processos térmicos) e separação (decantação, filtração, centrifugação, entre outros). A preservação de nutrientes, a redução do risco de contaminação e de etapas de processamento, bem como, a eliminação do uso de materiais contaminantes (terra diatomácea) na clarificação de bebidas são alguns

exemplos das características superiores deste método. Porém, esta técnica apresenta valores de fluxos de permeado reduzidos, sendo uma desvantagem no sentido de rendimento do processo (DAUFIN, ESCUDIER e CARRÈRE, 2001).

Os chás do tipo pronto para beber, cada vez mais populares e fontes de polifenóis, apresentam instabilidade quanto à turbidez, devido à formação de neblina e creme. A tecnologia de clarificação por membranas tem sido estudada e empregada para reduzir a quantidade de aditivos nas formulações, permitindo que as bebidas sejam mais naturais (SUBRAMANIAN, CHANDINI e SHARMA, 2014).

Um estudo desenvolvido por Todisco Tallarico e Gupta (2002) avaliou a ultrafiltração de chá preto com membrana cerâmica. Os efeitos das condições de operação sobre a permeação de polifenóis e o fluxo da ultrafiltração foram investigados através de experimentos a 50 °C em diferentes valores de pressão transmembrana (70 a 170 kPa) e velocidade *crossflow* (0,49 a 3,20 m.s<sup>-1</sup>). Observou-se que o aumento da pressão ocasionou diminuição no fluxo de permeado, este efeito pode estar relacionado a uma possível compactação da camada polarizada que pode aumentar a resistência hidráulica ou ainda a uma pressão osmótica mais elevada na superfície da membrana. A concentração de polifenóis e os parâmetros de cor (L, a, b) mantiveram-se estáveis no período de dois meses.

Chandini, Rao e Subramanian (2013) desenvolveram um trabalho de clarificação de chá preto (*Camellia sinensis*) utilizando micro (200 e 450 nm) e ultrafiltração (25, 50, 100 e 500 kDa). Nos processos com membranas da MF e UF-500, os extratos clarificados apresentaram ótima retenção da cor original e maior recuperação dos sólidos do chá, incluindo polifenóis. A clarificação empregando microfiltração (450 nm) com baixa concentração na alimentação (0,6 %) apresentou ótima produtividade e recuperação de compostos, podendo atender adequadamente os requisitos de qualidade do chá tipo pronto para beber.

Em estudo desenvolvido por Ferreira (2014) observou-se que o emprego de sistema de ultrafiltração (membrana de polietersulfona de 50 kDa) para o tratamento de extratos aquosos de erva-mate, avaliando os efeitos da agitação no tanque de alimentação e da pressão transmembrana. O autor observou que a agitação não influi no processo que produziu um extrato clarificado isento de turbidez para qualquer condição experimental. O fluxo de permeado máximo obtido foi de 12,7

$\text{kg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$  a 0,15 MPa, e transmitância de compostos fenólicos da ordem de 86,7 %, indicando a preservação destes no extrato clarificado.

### 3.3.1 Fenômenos que Limitam o Fluxo de Permeado

Nos processos de separação por membranas busca-se o máximo fluxo de permeado com a seletividade requerida no processo. Porém, alguns fenômenos ocorrem durante o processo que reduzem a taxa de permeação: polarização por concentração, camada polarizada ou torta filtrante e *fouling* (USHIKUBO, WATANABE e VIOTTO, 2006).

Devido à seletividade das membranas, durante o processo de separação sempre haverá aumento da concentração das espécies retidas próximo à superfície da membrana, provocando um movimento difusivo do soluto no sentido de retornar ao seio da solução. Este fenômeno é conhecido como polarização por concentração e provoca resistência à transferência de massa do solvente através da membrana com consequente queda no fluxo do permeado logo no início do processo (MULDER, 1995).

A camada polarizada ou torta filtrante ocorre quando a concentração do soluto na interface membrana/solução aumenta de tal maneira que ocorre um depósito na superfície da membrana. Esta camada aumenta a resistência ao fluxo de permeado, porém como ela apresenta uma característica dinâmica pode ter seus efeitos minimizados através de mudanças no sistema (aumento da velocidade, diminuição da pressão e diminuição da concentração da solução de alimentação) (USHIKUBO, WATANABE e VIOTTO, 2006).

O *fouling* é um conjunto de fatores relacionados à natureza da membrana e suas interações com o soluto e, por isso, é indesejável e de difícil compreensão. Os principais efeitos são (MERIN e DAUFIN, 1990):

- Adsorção do soluto na membrana: ocorre devido às interações físico-químicas entre o material da membrana e os componentes da solução alimentada.
- Entupimento dos poros: consiste na obstrução dos poros da membrana pelas partículas presentes na solução a ser tratada.
- Depósito superficial do soluto: ocorre através da formação de um filme compactado na superfície da membrana.

Os efeitos da polarização por concentração e do *fouling* sobre o fluxo de permeado ao longo do tempo de processamento pode ser visualizado na FIGURA 3.6.

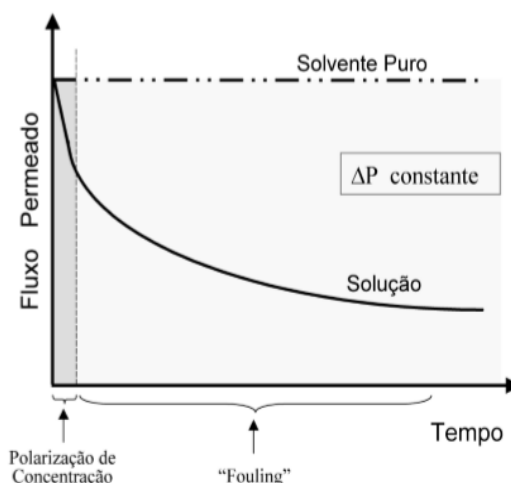


FIGURA 3.6 - QUEDA DO FLUXO DE PERMEADO AO LONGO DO TEMPO DEVIDO À POLARIZAÇÃO POR CONCENTRAÇÃO E *FOULING*  
 FONTE: HABERT, BORGES e NOBREGA (2006).

### 3.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A partir do exposto nos tópicos anteriores, destaca-se que a erva-mate é um importante produto agroindustrial para o Brasil, especialmente na região Sul, que vem sendo explorado no sentido de diversificar seu uso. Rica em compostos bioativos, como fenólicos e metilxantinas, a erva-mate é conhecida por ter ação diurética e antioxidante, atuando na prevenção de doenças.

A preocupação com bem-estar e saúde tem feito com que os consumidores procurem por produtos que contenham compostos que trazem benefícios à saúde, como os bioativos. Neste sentido, os chás do tipo pronto para beber são uma alternativa de aplicação da erva-mate e constituem um mercado em crescimento. Portanto, são necessários estudos para o desenvolvimento de bebidas naturais como estas, livres de aditivos e com alto valor agregado.

Na fabricação de chás a extração e a clarificação são duas etapas que afetam significativamente a qualidade do produto final. A extração, responsável por retirar da matriz vegetal os compostos de interesse, é influenciada por diversos fatores que devem ser avaliados no sentido de maximizar o rendimento.

Poucos estudos reportam um estudo sistêmico da etapa de clarificação de erva-mate para obtenção de um extrato clarificado associado a sua composição de compostos bioativos. Neste contexto, este trabalho visa aprofundar os poucos estudos existentes (FERREIRA, 2014) e avaliar o potencial tecnológico do emprego de processo de separação por membranas porosas (ultrafiltração ou microfiltração) na clarificação de extrato aquoso de erva-mate, obtendo um produto livre de turbidez com altos teores de compostos bioativos, com potencial tecnológico para emprego no desenvolvimento de novos produtos da indústria de alimentos.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 Erva-Mate

A matéria-prima, erva-mate seca cancheada, fornecida pela empresa Vier Ltda. (Palmeirinha – PR) na quantidade de 15,0 kg, foi homogeneizada e armazenada em embalagens individuais em local seco e ao abrigo da luz até o momento das análises.

Cerca de 4,0 kg da amostra foram processados em moinho de facas (MARCONI, modelo MA 630/01) a fim de avaliar o efeito de diferentes tamanhos de partícula no processo de extração sólido-líquido.

#### 4.1.2 Reagentes

Para a realização das análises dos compostos bioativos foram utilizados os padrões de ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), rutina, cafeína e teobromina adquiridos da Sigma Aldrich. Ácido fórmico padrão analítico (85%, Vetec) e metanol grau cromatográfico (99%, J.T. Baker) foram utilizados para compor a fase móvel da análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

O reagente de Folin-Ciocalteu 2 N e carbonato de sódio grau analítico utilizados na análise de fenólicos totais foram da marca da Vetec.

### 4.2 MÉTODOS

Na FIGURA 4.1 estão apresentadas as principais etapas e variáveis avaliadas durante o processo de obtenção do extrato de erva-mate clarificado.

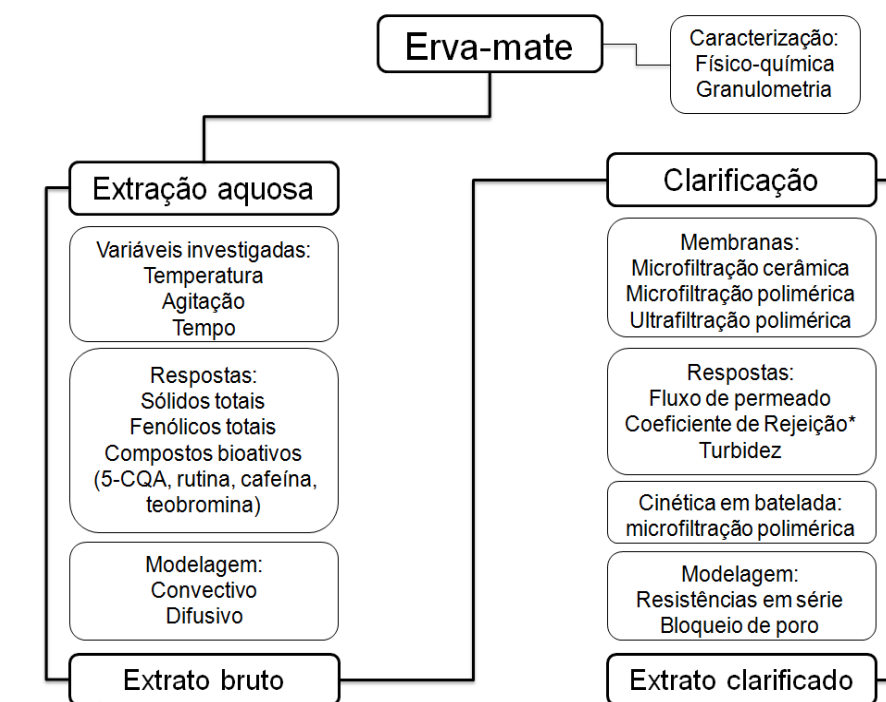


FIGURA 4.1 - ESQUEMA DAS ETAPAS DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DO EXTRATO DE ERVA-MATE CLARIFICADO

\* Coeficiente de rejeição em relação aos compostos bioativos (5-CQA, rutina, cafeína e teobromina).

#### 4.2.1 Caracterização da amostra

A erva-mate foi submetida às análises de umidade, cinzas, lipídeos e proteínas de acordo com os métodos da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2002). O teor de fibra bruta foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Silva (2002).

As amostras cancheada e moída foram submetidas à análise de distribuição granulométrica em peneiras com aberturas entre 0,075 e 2,36 mm adequadamente selecionadas e posicionadas em um agitador eletromagnético (BERTEL N-2099), onde foram submetidas à agitação durante 10 minutos. Todas as análises de caracterização da amostra foram realizadas em triplicata.

O diâmetro médio da partícula da erva-mate cancheada foi estimado por meio da equação (4.1) que tem como base o volume da amostra (RICHARDSON *et al.*, 2002).

$$D_{P,Volume} = \left[ \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{y_i}{D_{p,i}^3}} \right]^{\frac{1}{3}} \quad (4.1)$$

Sendo:

$D_{P,Volume}$  - diâmetro médio das partículas com base no volume (mm);

$y_i$  - fração de partículas retidas na peneira de diâmetro  $i$ ;

$D_{p,i}$  - tamanho da abertura da peneira  $i$  (mm).

#### 4.2.2 Extração Sólido-Líquido

A extração aquosa em batelada foi avaliada em função do teor de sólidos totais (resíduo seco); fenólicos totais; dois compostos fenólicos: ácido 5-cafeoilquínico e rutina e duas metilxantinas: cafeína e teobromina presentes no extrato.

A influência das variáveis temperatura e agitação foi estudada através de um Delineamento Composto Central (DCC), com as seguintes faixas de trabalho: temperatura de 20,0 a 80,0 °C e agitação de 0 a 400rpm (TABELA 4.1). Os ensaios foram realizados em duplicatas independentes e conduzidos na forma de estudo cinético durante três horas em um volume de 1,0 L de água deionizada. Alíquotas de aproximadamente 6,0 mL foram retiradas com auxílio de seringa nos tempos de 3, 10, 20, 30, 60, 120 e 180 minutos, filtradas em filtro convencional e armazenadas em frascos âmbar até o momento das análises.

TABELA 4.1 - DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DA EXTRAÇÃO AQUOSA DE ERVA-MATE

ENSAIO	CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	
	Temperatura (°C)	Agitação (rpm)
1	20,00 (-1)	0,00 (-1)
2	20,00 (-1)	400,00 (+1)
3	80,00 (+1)	0,00 (-1)
4	80,00 (+1)	400,00 (+1)
5 (C)	50,00 (0)	200,00 (0)

A concentração de 7% m/m de erva-mate (cancheada e moída) utilizada nos ensaios foi determinada em estudo prévio realizado por meio de um Delineamento Compostos Central Rotacional (DCCR), na faixa de 1,95 a 12,05 % m/m, avaliando a resposta de resíduo seco. O controle da temperatura foi feito através de um banho termostático (QUIMIS Q215-M2), sob agitação controlada (QUIMIS Q250-M2).

#### 4.2.3 Procedimentos Analíticos

##### 4.2.3.1 Teor de Sólidos Totais

O teor de sólidos totais (resíduo seco) foi obtido por secagem em estufa (105 °C) de cerca de 4,0 mL de extrato até massa constante.

##### 4.2.3.2 Compostos Fenólicos Totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada no Laboratório de Química Analítica Aplicada (LQAA) da Universidade Federal do Paraná pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI 1965) com modificações propostas por Song *et al.* (2010).

Um volume de 0,5 mL do extrato diluído adequadamente foi adicionado de 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu ( $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ ), após 4 minutos foram adicionados 2,0 mL de solução saturada de carbonato de sódio ( $75 \text{ g.L}^{-1}$ ). A reação ocorreu ao abrigo da luz e em temperatura ambiente e após 120 minutos a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 740 nm. Água foi utilizada como branco e a curva padrão foi feita com ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) nas concentrações de 15 a 135  $\text{mg.L}^{-1}$ . Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente em ácido 5-cafeoilquínico ( $\text{mg5-CQAE}/\text{L}$  de extrato).

#### 4.2.3.3 Avaliação dos Compostos Bioativos

Os compostos fenólicos e metilxantinas dos extratos de erva-mate foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) no Laboratório de Pesquisa Experimental I (LPE I) da Universidade Federal do Paraná baseando-se nos trabalhos de Dutra, Hoffmann-Ribani e Ribani (2010) e Frizon (2011). Como compostos mais representativos dos grupos fenólicos e de metilxantinas foram quantificados: ácido 5-cafeolquínico (5-CQA); rutina; cafeína; e teobromina.

Um cromatógrafo de fase líquida, Agilent 1200 Series, controlado pelo Software EzChrom Elite, acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD), bomba quaternária, injetor automático, sistema degaseificador e uma coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 de 4,6 mm de diâmetro, 150 mm de comprimento e partículas de 5  $\mu\text{m}$ , foram utilizados nas análises.

A eluição dos compostos foi realizada em modo gradiente entre a fase móvel A, água/ácido fórmico (99,55:0,45 v/v), e B, metanol/ácido fórmico (99,55:0,45 v/v), com vazão constante de 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Ambas as fases foram, previamente filtradas em um sistema de filtração a vácuo, utilizando filtro de membrana em Nylon com diâmetro de 47 mm e porosidade de 0,45  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, para eliminar os gases dissolvidos na fase móvel, manteve-se as soluções em banho ultrassônico, 154 W de potência (UNIQUE, modelo USC-1880 A) a 20 °C por 10 min.

A programação do gradiente foi a seguinte: iniciou-se com 80%A:20%B até 9 min passando para 58%A:42%B em 11 min retornando a 80%A:20%B em 22 min até o tempo de 25 min que corresponde ao final da corrida cromatográfica. O comprimento de onda utilizado nas leituras e caracterização dos picos dos compostos analisados foi de 272 nm para as metilxantinas (cafeína e teobromina) e de 325 e 370 nm para os compostos fenólicos: 5-CQA e rutina, respectivamente.

Alíquotas dos extratos de erva-mate foram diluídas na fase móvel A, na proporção de 1:1 (v/v) filtrados em filtro seringa de nylon, com diâmetro de 13 mm e poro de 0,22  $\mu\text{m}$ , e levados ao cromatógrafo para proceder a análise. Em cada corrida cromatográfica um volume de 5  $\mu\text{L}$  de amostra foi injetado de acordo com as condições do método descritas anteriormente.

A identificação dos compostos foi baseada na comparação dos tempos de retenção e espectros de absorção entre os picos dos padrões e os picos obtidos nos cromatogramas das amostras.

Os compostos fenólicos e as metilxantinas foram quantificados por calibração externa, baseando-se na comparação entre a área dos picos analíticos das amostras com as áreas e concentrações conhecidas dos padrões dos compostos. Para tanto, foram elaboradas curvas de calibração com os padrões: 5-CQA (50 a 750 mg.L<sup>-1</sup>); rutina (2,5 a 200 mg.L<sup>-1</sup>); cafeína (50 a 750 mg.L<sup>-1</sup>); teobromina (14,3 a 143 mg.L<sup>-1</sup>).

#### 4.2.3.4 Estimativa do Teor Total de Compostos Bioativos

Erva-mate moída foi submetida à extração com intuito de quantificar os teores totais dos compostos bioativos avaliados neste trabalho. Para tanto, 2 g de amostra foram submetidas à maceração com 100 mL de solução água:etanol 1:1 (v/v) *overnight* a temperatura ambiente. Então, foram realizadas três extrações com 25 mL da solução sob refluxo por 30 minutos. Os extratos foram recolhidos, sendo o volume completado em balão volumétrico de 250 mL, e então submetidos à análise cromatográfica (seção 4.2.3.3) (RIBANI, 2006).

#### 4.2.4 Estudo Cinético do Processo de Extração Sólido-Líquido

Modelos matemáticos foram ajustados aos dados experimentais obtidos da extração aquosa de erva-mate cancheada por meio de regressão. Para tanto, foram utilizados modelos fenomenológicos de transferência de massa considerando conceitos de convecção externa e difusão.

O modelo de transferência de massa por convecção, equação (4.2), avalia a variação da concentração do extrato em meio líquido a partir de um gradiente de concentração linear e um coeficiente convectivo de transferência de massa externa. Assume-se que a transferência de massa é conduzida pelo gradiente de concentração do soluto na fase líquida e a sua concentração de equilíbrio. Neste caso, a difusão interna é negligenciada (PIN *et al*, 2009).

$$\frac{dC}{dt} = k \cdot (C_{eq} - C) \quad (4.2)$$

condição :  $C(t = 0) = 0$

Sendo:

$C$  - concentração do soluto na fase líquida ( $\text{mg.L}^{-1}$ );

$t$  - tempo de extração (min);

$k$  - coeficiente de transferência de massa ( $\text{min}^{-1}$ );

$C_{eq}$  - concentração do soluto na fase líquida no equilíbrio ( $\text{mg.L}^{-1}$ ).

A equação diferencial pode ser facilmente integrada e reduzida em termos de variáveis dependentes e independentes, equação (4.3).

$$C(t) = C_{eq} \cdot (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (4.3)$$

O modelo de difusão intrapartícula é concebido a partir da Lei de Fick da difusão, equação (4.4), onde a difusão interna dos compostos de interesse é conduzida pela diferença de concentração entre a matriz vegetal e o solvente (CHAN, YUSOFF e NGOH, 2014).

$$N = -D \cdot \frac{dX}{dx} \quad (4.4)$$

Sendo:

$N$  - fluxo de massa do soluto ( $\text{mg.g}^{-1}.\text{mm}^{-1}.\text{min}^{-1}$ );

$D$  - coeficiente de difusão para o soluto no solvente ( $\text{mm}^2.\text{min}^{-1}$ );

$X$  - concentração do soluto no sólido ( $\text{mg.g}^{-1}$ );

$x$  - distância na direção da difusão (mm).

Adotando a resistência à transferência de massa externa como insignificante, o modelo do processo de extração pode ser desenvolvido considerando somente o balanço de massa em uma partícula sólida esférica uniforme. Assim, a massa de soluto transferida do sólido ao longo do tempo pode ser calculada pela equação (4.5) (CHAN, YUSOFF e NGOH, 2014).

$$\frac{M}{M_{\infty}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \cdot \exp \left\{ -\frac{Dn^2\pi^2t}{R^2} \right\} \quad (4.5)$$

Sendo:

$M$  - massa de soluto transferida do sólido no tempo (mg);

$M_{\infty}$  - massa de soluto transferida após um tempo infinito (mg);

$R$  - raio da partícula sólida (mm).

A equação (4.5) foi reescrita em termos da concentração do soluto no sólido durante o tempo de extração, equação (4.6), e truncada no 5º termo. Os dados experimentais (concentração de bioativos em  $\text{mg.L}^{-1}$ ) foram transformados em

termos de concentração de soluto no sólido através do balanço de massa para a partícula sólida, considerando que a concentração inicial no líquido é zero, equação (4.7).

$$X = X_0 + (X_{eq} - X_0) \cdot \left[ 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \cdot \exp \left\{ -\frac{Dn^2 \pi^2 t}{R^2} \right\} \right] \quad (4.6)$$

$$X = X_0 - C \cdot \frac{v}{m} \quad (4.7)$$

Sendo:

$X_0$  - concentração inicial do soluto no sólido (mg.g<sup>-1</sup>);

$X_{eq}$  - concentração do soluto no sólido no equilíbrio (mg.g<sup>-1</sup>);

$v$  - volume de água total utilizado na extração (L);

$m$  - massa de erva submetida à extração (g).

#### 4.2.5 Clarificação do Extrato Aquoso de Erva-mate por Processo de Separação por Membranas

Extratos aquosos de erva-mate cancheada, obtidos por extração (7% m/m de erva/água, 80 °C, 0 rpm, 30 min) e previamente filtrados (peneira com abertura de 0,075 mm - 200 mesh), foram submetidos ao processo de clarificação por membranas porosas (micro e ultrafiltração) com o intuito de obter um extrato final livre de turbidez e com a menor perda de compostos bioativos.

Inicialmente, a solução de erva-mate foi submetida ao tratamento em diferentes sistemas de membranas, operados em sistema fechado, com o intuito de avaliar o efeito de diferentes tipos de membranas e da pressão transmembrana, sobre as seguintes variáveis dependentes: fluxo de permeado, remoção de turbidez e perdas de compostos bioativos. As unidades adotadas neste estudo foram (FIGURA 4.2):

- Unidade de microfiltração tangencial multitubular: membrana de  $\alpha$ -alumina, diâmetro de poro de 0,44  $\mu$ m, área superficial de 0,06 m<sup>2</sup>.
- Unidade de separação com membranas poliméricas: membranas de fibra oca de microfiltração (polieterimida, diâmetro de poro de 0,44  $\mu$ m e área superficial de



0,056 m<sup>2</sup>) e de ultrafiltração (polietersulfona, diâmetro nominal de corte, *cut-off* de 50 kDa, e área superficial de 0,036 m<sup>2</sup>).



FIGURA 4.2 - UNIDADES EXPERIMENTAIS DE MICRO E ULTRAFILTRAÇÃO COM MEMBRANAS POLIMÉRICAS (ESQUERDA) E MICROFILTRAÇÃO COM MEMBRANA CERÂMICA (DIREITA)

A partir da avaliação do sistema mais adequado para o processo de clarificação, foi realizado o estudo cinético em regime de batelada, com o intuito de caracterizar o comportamento dinâmico do processo de clarificação. Os detalhes de cada ensaio estão descritos nos tópicos a seguir.

O estudo da clarificação do extrato aquoso de erva-mate consistiu na avaliação dos seguintes parâmetros de resposta:

- Fluxo de permeado ( $J_p$ )
- Fator de concentração ( $FC$ )
- Coeficiente de rejeição ( $CR$ )
- Coeficiente de transmissão ou transmitância ( $T_r$ )
- Turbidez

O fluxo de permeado médio ( $J_p$ ) foi obtido por gravimetria a partir da coleta do permeado em recipiente disposto sobre uma balança semi-analítica (EXACTA, modelo BL-6200B), previamente tarado (USHIKUBO, WATANABE e VIOTTO, 2006). O valor de massa indicado na balança foi registrado nos instantes de tempo determinados para cada experimento. O cálculo do valor de fluxo foi feito de acordo com a equação (4.8).

$$J_p = \frac{\Delta m}{S \cdot t} \quad (4.8)$$

Sendo:

$J_p$  - valor de fluxo de permeado ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ );

$\Delta m$  - massa de permeado coletada durante o tempo (kg);

$S$  - área superficial da membrana ( $\text{m}^2$ ) conforme a TABELA 4.2;

$t$  - tempo em que foi registrada a massa (h).

O fator de concentração ( $FC$ ) expressa o grau de concentração da solução alimentada, equação (4.9).

O coeficiente de rejeição ( $CR$ ) indica a relação entre o soluto que permeia a membrana e o que é retido na sua superfície, equação (4.10).

O coeficiente de transmissão ou transmitância ( $T_r$ ) relaciona a concentração que permeia pela que não permeia a membrana, equação (4.11).

$$FC = \frac{m_I}{m_I - m_p} \quad (4.9)$$

$$CR(\%) = \left( 1 - \frac{C_p}{C_B} \right) \cdot 100 \quad (4.10)$$

$$T_r(\%) = \left( \frac{C_p}{C_R} \right) \cdot 100 \quad (4.11)$$

Sendo:

$m_I$  - massa de extrato alimentada no início do processo (kg);

$m_p$  - massa de permeado acumulada durante um período de tempo (kg);

$C_p$  - concentração do soluto na corrente de permeado ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );

$C_B$  - concentração do soluto na corrente de alimentação ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );

$C_R$  - concentração do soluto na corrente de retentado ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

A turbidez do extrato foi determinada através de um turbidímetro de bancada (POLICONTROL, modelo AP 2000) que compara o espalhamento de um feixe de luz ao passar pela amostra com o espalhamento de um feixe de igual intensidade ao passar por uma suspensão padrão. Os resultados são expressos em Unidade Nefelométrica de Turbidez (NTU) e a calibração foi feita com suspensões padrões de <0,1; 20; 100 e 800 NTU.

Após cada experimento as membranas eram submetidas a um procedimento de limpeza química a fim de recuperar sua capacidade de permeabilidade. O processo consistia em deixar a membrana imersa em solução de NaOH 0,1 M por 24 horas, seguida pela imersão em solução de hipoclorito de sódio 500 ppm por 1 hora. Após o tratamento químico a membrana era submetida a sucessivos enxágues e sua permeabilidade hidráulica era determinada. O valor da permeabilidade hidráulica era comparado com o obtido em ensaios anteriores e nas mesmas condições. Caso o valor fosse menor que o mínimo estabelecido, a membrana era submetida novamente ao ciclo de limpeza.

A permeabilidade hidráulica ( $P_H$ ) é determinada através de valores de fluxo de permeado obtidos em diferentes pressões transmembrana utilizando água. Como nesse caso a única resistência é a membrana, a relação entre o fluxo e a pressão é linear, como descrito na equação (4.12) (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006).

$$J_p = P_H \cdot \Delta P \quad (4.12)$$

Sendo:

$J_p$  - valor de fluxo de permeado ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ );

$P_H$  - permeabilidade hidráulica ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{MPa}^{-1}$ );

$\Delta P$  - pressão transmembrana aplicada.

#### 4.2.5.1 Ensaios de Microfiltração e Ultrafiltração em Regime Fechado

Ensaios de microfiltração (membrana cerâmica e polimérica) e ultrafiltração (membrana polimérica) foram conduzidos em sistema fechado com reciclo total a fim de avaliar o efeito da pressão transmembrana no fluxo do permeado. Na TABELA 4.2 encontram-se as informações das membranas utilizadas.

TABELA 4.2 - CARACTERÍSTICAS DAS MEMBRANAS

PROPRIEDADES	MEMBRANAS		
Material constituinte	Cerâmico: $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$	Polimérico: Polieterimida	Polimérico: Polietersulfona
Tamanho de poro	0,44 $\mu\text{m}$	0,40 $\mu\text{m}$	50 kDa*
Área ( $\text{m}^2$ )	0,06	0,056	0,036

\* Retenção nominal – “cut-off”.

O modo de operação em regime de reciclo total (FIGURA 4.3) consiste em recircular as correntes de permeado e retentado ao tanque de alimentação com o objetivo de manter seu volume constante.

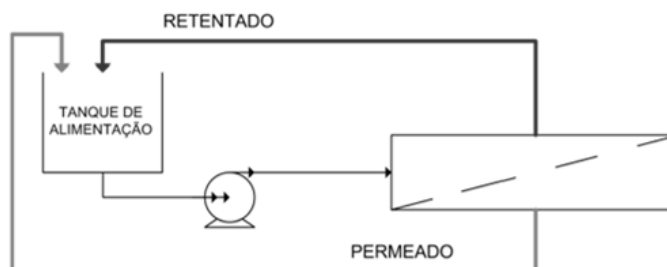


FIGURA 4.3 - MODO DE OPERAÇÃO DO PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO EM SISTEMA FECHADO

Os ensaios consistiram em utilizar diferentes pressões transmembrana pelo período de 10 minutos cada e registrar valores de fluxo (minuto a minuto) em cada condição. Para cada ensaio foram adotadas seis pressões de trabalho de acordo com a possibilidade de operação de cada módulo experimental, variando de 0,01 a 0,08 MPa. Ao final do ensaio (após 60 minutos de operação) foram coletadas amostras das correntes de permeado, retentado e alimentação que foram submetidas às análises de turbidez e quantificação de compostos bioativos (5-CQA, rutina, cafeína e teobromina).

#### 4.2.5.2 Estudo Cinético do Processo de Clarificação por Membranas Porosas

A avaliação dinâmica do processo de clarificação de extrato aquoso de erva-mate foi conduzida apenas para o sistema de membrana de fibra oca polimérica de microfiltração (membrana de polieterimida), em decorrência de ter apresentado melhores valores de fluxo de permeado e menores perdas de compostos bioativos. A cinética foi avaliada em regime de batelada, que consiste na remoção contínua do permeado, diminuindo o volume de solução inicial (FIGURA 4.4). Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente, utilizando a vazão de alimentação de  $2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  e pressão transmembrana de 0,02 MPa, definida pelo estudo preliminar em regime de reciclo total.

O fluxo de permeado foi monitorado em intervalos regulares de tempo, a contar do tempo zero até 45 minutos. As alíquotas para análise de turbidez e quantificação de compostos bioativos (5-CQA, rutina, cafeína e teobromina) foram retiradas nos tempos: 1; 5; 10; 20; 30 e 45 minutos, contendo pontos de amostragem das correntes de alimentação, retentado e permeado.

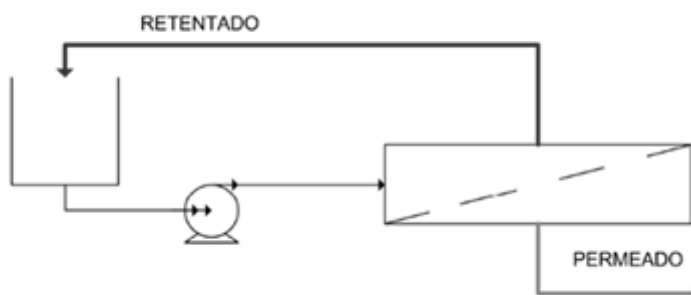


FIGURA 4.4 - MODO DE OPERAÇÃO DO PROCESSO DE CLARIFICAÇÃO EM BATELADA

A análise do perfil dinâmico do processo de clarificação do extrato aquoso da erva-mate foi efetuado mediante o estudo dos modelos das resistências em série (USHIKUBO, WATANABE e VIOTTO, 2006) e dos mecanismos de bloqueio de poros (FIELD *et al.*, 1995).

#### 4.2.5.3 Análise das Resistências em Série

No modelo das resistências em série avalia-se a contribuição do global dos principais componentes resistivos ao fluxo de permeado: resistência intrínseca a membrana, resistência devido a formação do *fouling* e a resistência devido a polarização por concentração.

O fluxo do permeado é descrito em função da pressão transmembrana e da resistência total, conforme a equação (4.13).

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \cdot R_T} \quad (4.13)$$

Sendo:

$\mu$  - viscosidade da solução que permeia a membrana (Pa.s);

$R_T$  - resistência total ao processo de filtração ( $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ ).

A resistência total é a somatória dos efeitos resistivos que ocorrem durante a microfiltração e pode ser aproximada conforme a equação (4.14).

$$R_T = R_M + R_F + R_p \quad (4.14)$$

Sendo:

$R_M$  - resistência específica da membrana ( $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ );

$R_F$  - resistência devido à formação de *fouling* (irreversível) ( $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ );

$R_p$  - resistência devido à camada de polarização (efeito da polarização por concentração e formação da torta na superfície da membrana) ( $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ ).

O valor da resistência específica da membrana ( $R_M$ ) é obtido através do valor de fluxo com água microfiltrada para a membrana limpa ( $J_w$ ) e a viscosidade da água ( $\mu_w$ ), conforme a equação (4.15). Nestas condições as resistências por polarização e *fouling* são nulas.

$$R_M = \frac{\Delta P}{\mu_w \cdot J_w} \quad (4.15)$$

A resistência devido ao *fouling* é determinada pelo cálculo da resistência total a partir da medida de fluxo com água microfiltrada obtido após a operação com o extrato de erva-mate ( $J'_w$ ) e com a viscosidade da água. Como se utiliza somente água neste processo, a resistência por polarização pode ser desprezada e, portanto, o cálculo é feito de acordo com a equação (4.16).

$$R_F = \frac{\Delta P}{\mu_w \cdot J'_w} - R_M \quad (4.16)$$

O valor de  $R_p$  é obtido pela equação (4.14) a partir dos valores de resistências obtidos, sendo  $R_T$  obtida pelo valor de fluxo estacionário com o extrato de erva-mate.

#### 4.2.5.4 Modelo do Bloqueio de Poros

A análise do modelo de bloqueio de poros permite estimar qual é o mecanismos de obstrução dos poros predominante do processo, e com isso, permitie avaliar os processo de higienização e limpeza da membrana mais efetivos

para a recuperação da membrana, assim como avaliar ao longo do tempo o fluxo de permeado pseudo-estacionário.

Os modelos de bloqueio de poros, descrito por HERMIA (1982) e adaptado por Field *et al.* (1995), foram obtidos a partir da integração da equação (4.17), para cada índice de bloqueio de poros.

$$\frac{dJ(t)}{dt} = -K_n \cdot (J(t) - J^*) \cdot J(t)^{2-n} \quad (4.17)$$

Sendo:

$K_n$  - coeficiente experimental de bloqueio de poro;

$J^*$  - fluxo de permeado no equilíbrio ( $\text{kg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ );

$n$  - coeficiente experimental que determina o mecanismo de bloqueio de poros.

Os modelos de bloqueio de poros integrados da equação (4.17) seguem listados na TABELA 4.3. O conjunto de dados de fluxo de permeado por tempo foi submetido à regressão para cada equação algébrica. O valor de  $J_o$  é o fluxo no tempo zero, obtido por extrapolação dos dois primeiros pontos de coleta de dados. O valor de  $J_{LIM}$  é o fluxo medido no último minuto de operação que se aproxima ao fluxo da região estacionária.

TABELA 4.3 - EXPRESSÕES ALGÉBRICAS PARA OS MODELOS DE BLOQUEIO DE POROS

MODELO DE BLOQUEIO DE POROS	EQUAÇÃO	$n$
Bloqueio completo de poros	$J(t) = J_{LIM} + (J_o - J_{LIM}) \cdot e^{-k_n \cdot t}$	2,0
Bloqueio parcial de poros	$K_n \cdot t = \frac{1}{J_{LIM}} \cdot \ln \left[ \frac{J_o - J_{LIM}}{J_o} \cdot \frac{J(t)}{J(t) - J_{LIM}} \right]$	1,0
Formação da torta	$K_n \cdot t = \frac{1}{J_{LIM}^2} \cdot \left[ \ln \left( \frac{J(t)}{J_o} \cdot \frac{J_o - J_{LIM}}{J(t) - J_{LIM}} \right) - J_{LIM} \cdot \left( \frac{1}{J(t)} - \frac{1}{J_o} \right) \right]$	0,0
Bloqueio interno de poros	$\frac{1}{\sqrt{J(t)}} = \frac{1}{\sqrt{J_o}} + K_n \cdot t$	1,5

#### 4.2.6 Análises Estatísticas

Todas as análises estatísticas efetuadas neste trabalho foram realizadas no software STATISTICA versão 10.0, adotando um intervalo de confiança ao nível de 95% de probabilidade. Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey foram as ferramentas utilizadas para determinar as diferenças estatísticas entre os dados.

As análises dos modelos cinéticos do processo de extração sólido-líquido foram efetuadas mediante verificação do ajuste dos modelos por meio de regressão não-linear adaptada ao método dos mínimos quadrados com intervalo de confiança ao nível de 95 % de probabilidade. Empregou-se o método numérico de estimação de Levenberg-Marquardt. Os ajustes dos modelos foram realizados no programa STATISTICA versão 10.0 da StatSoft.

A mesma ferramenta foi empregada para a estimativa dos parâmetros dos modelos de bloqueio de poros, no estudo da cinética do processo de clarificação por membranas porosas.

A qualidade dos ajustes matemático, quanto aos dados experimentais, foi avaliada mediante a estimativa do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para os modelos empregados na análise do processo de extração sólido-líquido. Os parâmetros  $R^2$ , soma dos quadrados dos resíduos (SQR), equação (4.18), e erro médio paramétrico (EM), equação (4.19), foram empregados nos modelos de bloqueio de poros na análise cinética do processo de clarificação por membranas .

$$SQR = \sum_{i=1}^{NE} (y_i^{EXP} - y_i^{CALC})^2 \quad (4.18)$$

$$EM = \frac{100}{n} \cdot \sum_{i=1}^{NE} \frac{|y_i^{EXP} - y_i^{CALC}|}{y_i^{EXP}} \quad (4.19)$$

Sendo:

$y_i^{EXP}$  - valor experimental da variável analisada;

$y_i^{CALC}$  - valor da variável analisada estimado pelos modelos matemáticos;

$n$  - número de observações.



## 5 RESULTADOS

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A composição centesimal da erva-mate está apresentada na TABELA 5.1. O teor de umidade (5,28%) encontrado atende ao exigido pela legislação que é no máximo 10% (BRASIL, 2002). Os valores de composição centesimal encontrados são próximos aos obtidos por Esmelindro e colaboradores (2002) expressos em base seca: cinzas (6,10%); fibra bruta (21,16%), lipídeos (6,04%) e proteína (13,34%). As variações encontradas podem ser explicadas pela influência da espécie, idade, estação, clima e condições de cultivo na composição química da erva-mate (VALDULGA *et al.*, 1997). O alto valor de proteína encontrado está relacionado à metodologia utilizada que quantifica o teor de nitrogênio total da amostra. Como a erva-mate é rica em metilxantinas (cafeína e teobromina), moléculas que contêm nitrogênio, esse resultado pode não representar adequadamente o teor de proteína.

TABELA 5.1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA ERVA-MATE

COMPONENTE	Umidade	Cinzas	Lipídeos	Proteína	Fibra bruta
(g.100g <sup>-1</sup> )*	5,28±0,12	6,88±0,06	7,28±0,31	15,06±0,14	24,79±0,39

\* Resultados em base seca (g do componente.100 g<sup>-1</sup> da amostra seca) expressos em média ± desvio padrão (triplicata da análise).

A distribuição granulométrica das amostras de erva-mate cancheada e moída está apresentada na FIGURA 5.1.

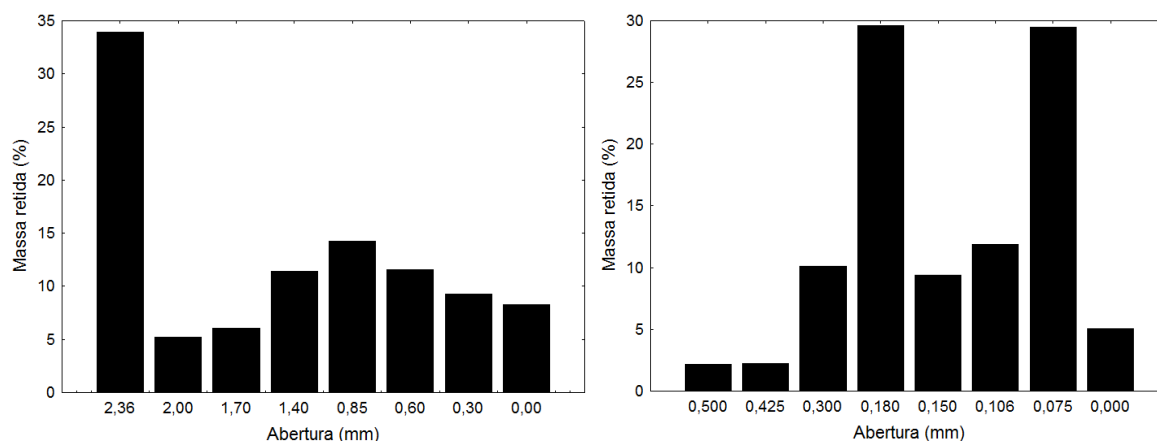


FIGURA 5.1 - DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA ERVA-MATE CANCHEADA (ESQUERDA) E MOÍDA (DIREITA)

A erva-mate cancheada possui um perfil de tamanho de partícula visivelmente irregular, contando com talos, partes de folhas de tamanhos diferenciados e sedimentos em pó. Através da análise granulométrica pode-se observar que grande parte da amostra (33,93%) tem tamanho médio maior que 2,36 mm, porém também confirma a presença de partículas menores que 0,30 mm, pois 8,27% da massa passaram pela última peneira. Portanto, esta amostra é composta por partículas que variam de tamanho em  $<0,30$  a  $>2,36$  mm.

A granulometria da erva-mate moída concentra-se na faixa de abertura de malha de  $<0,075$  a  $>0,500$  mm. Assim, verifica-se que as amostras cancheada e moída possuem tamanhos de partícula bem distintos.

A redução no tamanho da partícula permite avaliar se a adição de uma etapa de processamento (moagem) aumenta o rendimento da extração de forma satisfatória.

O teor de bioativos totais encontrado na erva-mate para cada composto quantificado está apresentado na TABELA 5.2. Os valores encontrados no presente trabalho estão de acordo com os encontrados na literatura que variam de 1,84 a 28,00  $\text{mg.g}^{-1}$  para o 5-CQA; 0,98 a 8,51  $\text{mg.g}^{-1}$  para a rutina; 0,90 a 21,46  $\text{mg.g}^{-1}$  para a cafeína e de 0,47 a 7,68  $\text{mg.g}^{-1}$  para a teobromina (GOSMAN *et al.*, 2012; ANESINI *et al.*, 2011; BERTÉ *et al.*, 2011; ISOLABELLA *et al.*, 2010; CARDOZO JÚNIOR *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2006). A grande variação encontrada nos teores dos compostos bioativos deve-se a vários fatores como: genética das plantas, ambiente e clima de cultivo e tipo de processamento (CARDOZO JÚNIOR *et al.*, 2007).

TABELA 5.2 - TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS ENCONTRADOS NA ERVA-MATE

COMPOSTO	5-CQA	RUTINA	CAFEÍNA	TEOBROMINA
( $\text{mg.g}^{-1}$ )*	9,80 $\pm$ 0,39	1,53 $\pm$ 0,03	18,45 $\pm$ 0,38	1,94 $\pm$ 0,06

\* Resultados expressos em média  $\pm$  desvio padrão (triplicata da extração).

## 5.2 EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO

As FIGURAS 5.2 e 5.3 ilustram os resultados obtidos para o teores de sólidos totais e fenólicos totais nas condições de temperatura e agitação determinadas pelo planejamento experimental (TABELA 4.1). Os dados obtidos para a erva-mate

cancheada apresentam comportamento similar ao de uma típica curva de extração em batelada, onde os valores de sólidos sofreram rápido aumento no início da extração (até 30 min) considerado como uma “fase de lavagem” seguido por uma fase de extração mais lenta, a etapa de difusão do soluto (CHAN, YUSOFF e NGOH, 2013).

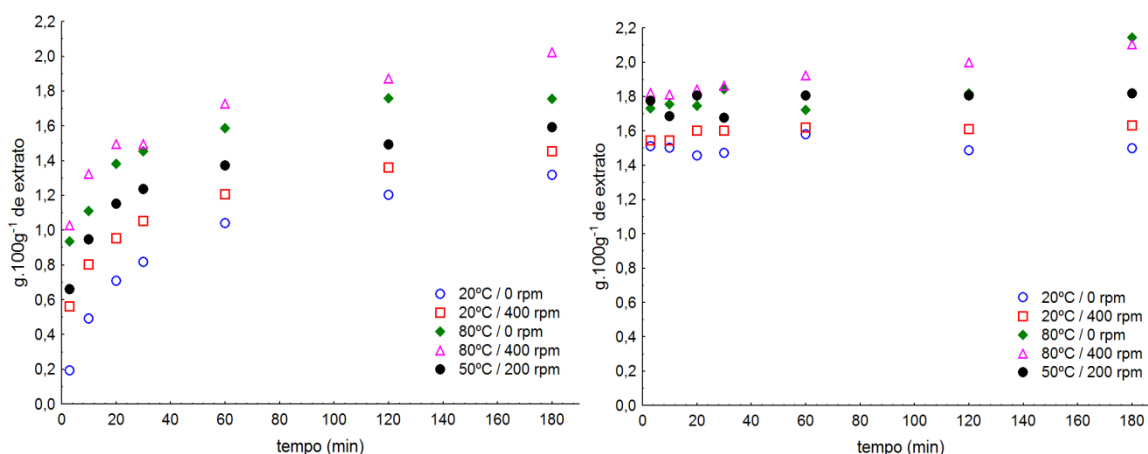


FIGURA 5.2 - CURVAS CINÉTICAS DO TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS (RESÍDUO SECO) DOS EXTRATOS OBTIDOS PARA AS CONDIÇÕES DETERMINADAS PELO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL. ERVA-MATE CANCHEADA (ESQUERDA) E MOÍDA (DIREITA).

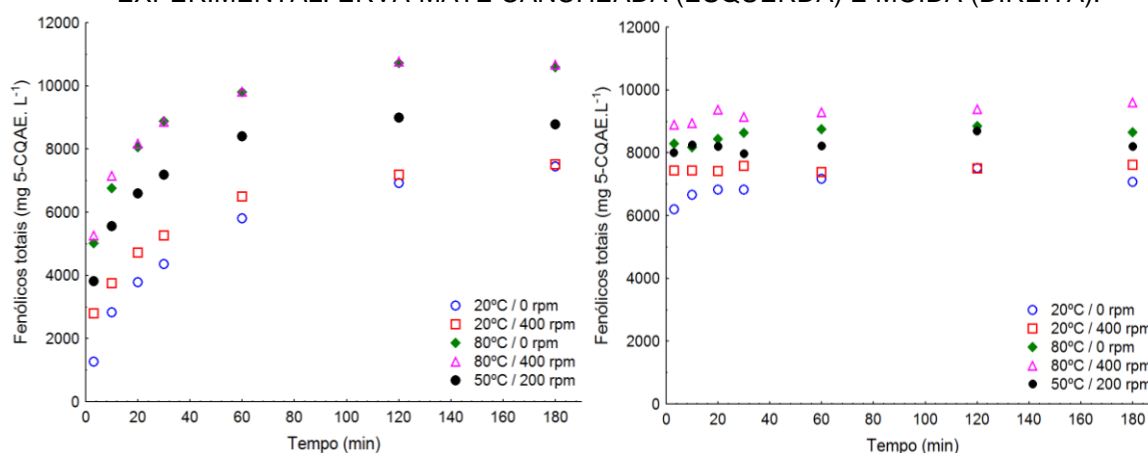


FIGURA 5.3 - CURVAS CINÉTICAS DO TEOR FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS OBTIDOS PARA AS CONDIÇÕES DETERMINADAS PELO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL. ERVA-MATE CANCHEADA (ESQUERDA) E MOÍDA (DIREITA)

Observa-se que para a erva-mate moída não houve um aumento significativo no rendimento com o passar do tempo em todas as condições, onde quase todos valores encontrados são estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A flutuação dos dados pode ser atribuída à possível aglomeração das partículas menores durante os ensaios não permitindo a devida homogeneidade no volume de extração levando a prováveis erros experimentais (BUCIĆ-KOJIĆ *et al.*,

2007). Entretanto, de forma geral, pode-se dizer que a etapa de moagem contribui para um aumento do rendimento da extração, em termos de teor de sólidos totais e fenólicos totais.

Com relação às condições de temperatura e agitação da extração pode-se observar que nas condições mais severas de extração os teores de sólidos no extrato foram maiores, corroborando com os estudos de Jenzen e Zanoelo (2012) e Samibiassi, Escalada e Schmalko (2002).

Para fenólicos totais, a tendência é a mesma, porém verifica-se que os valores encontrados nas mesmas temperaturas com e sem agitação para a erva-mate cancheada são muito semelhantes e, em vários casos, estatisticamente iguais. Portanto, pode-se concluir que, de maneira geral, o uso da agitação não contribui significativamente para a resposta de fenólicos totais nos níveis avaliados. Bassani, Nunes e Granato (2013) também verificaram que em condições mais severas de temperatura a extração de fenólicos de folhas de erva-mate tostadas é maior.

As TABELAS 5.3 e 5.4 contêm os valores dos compostos bioativos (5-CQA, rutina, cafeína e teobromina) avaliados, para cada ensaio do planejamento experimental para a erva-mate cancheada e moída nos tempos de extração de 30 e 180 minutos, respectivamente.

Em termos gerais, para o tempo de 30 minutos de extração todos os valores de compostos bioativos encontrados foram maiores para a erva-mate moída (em média 41,04% de 5-CQA, 58,01% de rutina, 27,72% de cafeína e 36,94% de teobromina). Estatisticamente, somente os teores de cafeína no ensaio 3 foram iguais para a erva-mate moída e cancheada, todos os demais apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Assim, percebe-se que em um tempo reduzido de extração (30 minutos) o uso da erva-mate moída resulta em maiores teores de compostos fenólicos e metilxantinas.

Nos extratos obtidos em 180 minutos de extração o comportamento encontrado foi diferente. Todos os teores encontrados para os quatro compostos identificados apresentaram médias estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) entre as amostras cancheada e moída, exceto para o 5-CQA no ensaio 1 e para a teobromina nos ensaios 1 e 3. Desta forma, verifica-se que o tamanho de partícula reduzido interfere com maior intensidade na etapa inicial do processo, definida como o estágio de lavagem do sólido submetido à extração. BUCIĆ-KOJIĆ *et al.* (2007) também observaram forte dependência da taxa inicial de extração com

o uso de partículas menores na obtenção de compostos fenólicos de semente de uva.

TABELA 5.3 - TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS (mg.L<sup>-1</sup>) NO EXTRATO DE ERVA-MATE NAS DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO (TEMPO-30 MINUTOS)<sup>1</sup>

ENSAIO <sup>2</sup>	5-CQA <sup>3</sup>		RUTINA	
	Cancheada	Moída	Cancheada	Moída
1	303,32±27,60 <sup>dB</sup>	551,20±10,75 <sup>bA</sup>	19,89±2,12 <sup>CB</sup>	42,95±1,06 <sup>CA</sup>
2	388,37±12,23 <sup>CB</sup>	605,93±12,31 <sup>bA</sup>	27,22±2,46 <sup>CB</sup>	47,67±0,35 <sup>bcA</sup>
3	559,70±22,15 <sup>abB</sup>	706,36±19,16 <sup>aA</sup>	47,08±2,75 <sup>aB</sup>	62,39±0,43 <sup>aA</sup>
4	591,81±10,21 <sup>aB</sup>	695,76±0,16 <sup>aA</sup>	48,31±0,31 <sup>aB</sup>	61,25±1,16 <sup>aA</sup>
5	497,74±12,78 <sup>bB</sup>	615,61±31,79 <sup>bA</sup>	37,12±1,29 <sup>bB</sup>	51,84±4,00 <sup>bA</sup>
ENSAIO <sup>2</sup>	CAFEÍNA		TEOBROMINA	
	Cancheada	Moída	Cancheada	Moída
1	427,09±40,78 <sup>CB</sup>	739,16±3,41 <sup>CA</sup>	67,49±3,67 <sup>dB</sup>	120,46±2,65 <sup>dA</sup>
2	570,91±57,96 <sup>bcB</sup>	763,91±4,22 <sup>CA</sup>	83,78±1,58 <sup>CB</sup>	130,56±0,35 <sup>CA</sup>
3	827,95±22,74 <sup>aA</sup>	853,41±11,74 <sup>aA</sup>	118,75±2,30 <sup>aB</sup>	143,14±0,12 <sup>aA</sup>
4	814,90±1,14 <sup>aB</sup>	849,49±0,95 <sup>aA</sup>	122,56±0,31 <sup>aB</sup>	143,25±1,36 <sup>aA</sup>
5	660,34±31,58 <sup>bB</sup>	805,07±12,88 <sup>bA</sup>	105,88±0,88 <sup>bB</sup>	137,24±0,00 <sup>bA</sup>

<sup>1</sup> Letras maiúsculas iguais nas linhas (em cada composto – cancheada e moída) e minúsculas iguais nas colunas (em cada composto) indicam médias iguais pelo teste de Tukey (p<0,05).

<sup>2</sup> Condições dos ensaios: 1 (20 °C/0 rpm); 2 (20 °C/400 rpm); 3 (80 °C/0 rpm); 4 (80 °C/400 rpm); 5 (50 °C/200 rpm).

<sup>3</sup> Ácido 5-cafeoilquínico.

TABELA 5.4 - TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS (mg.L<sup>-1</sup>) NO EXTRATO DE ERVA-MATE NAS DIFERENTES CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO (TEMPO-180 MINUTOS)<sup>1</sup>

ENSAIO <sup>2</sup>	5-CQA <sup>3</sup>		RUTINA	
	Cancheada	Moída	Cancheada	Moída
1	554,07±1,66 <sup>CB</sup>	587,97±4,68 <sup>CA</sup>	42,33±3,54 <sup>bA</sup>	44,79±2,56 <sup>bA</sup>
2	578,65±8,69 <sup>CA</sup>	567,25±30,14 <sup>CA</sup>	40,83±0,97 <sup>bA</sup>	43,22±3,45 <sup>bA</sup>
3	759,68±61,27 <sup>abA</sup>	710,64±31,47 <sup>bA</sup>	59,85±1,83 <sup>aA</sup>	55,13±1,86 <sup>aA</sup>
4	826,38±60,07 <sup>aA</sup>	819,77±17,21 <sup>aA</sup>	57,68±3,29 <sup>aA</sup>	56,29±1,80 <sup>aA</sup>
5	644,88±18,12 <sup>bcA</sup>	650,48±4,91 <sup>bcA</sup>	49,54±2,37 <sup>abA</sup>	54,55±0,33 <sup>aA</sup>
ENSAIO <sup>2</sup>	CAFEÍNA		TEOBROMINA	
	Cancheada	Moída	Cancheada	Moída
1	742,77±26,59 <sup>bA</sup>	762,22±1,91 <sup>CA</sup>	115,73±2,92 <sup>bB</sup>	128,34±0,70 <sup>bA</sup>
2	790,31±41,12 <sup>bA</sup>	746,19±23,27 <sup>CA</sup>	119,62±7,08 <sup>bA</sup>	127,48±3,90 <sup>bA</sup>
3	879,73±46,75 <sup>abA</sup>	928,14±14,86 <sup>aA</sup>	134,69±0,45 <sup>abB</sup>	138,39±0,71 <sup>bA</sup>
4	987,36±49,19 <sup>aA</sup>	854,31±28,44 <sup>bA</sup>	148,76±7,22 <sup>aA</sup>	158,33±5,77 <sup>aA</sup>
5	851,13±57,02 <sup>abA</sup>	815,40±8,42 <sup>bcA</sup>	130,96±4,84 <sup>abA</sup>	135,97±0,00 <sup>bA</sup>

<sup>1</sup> Letras maiúsculas iguais nas linhas (em cada composto – cancheada e moída) e minúsculas iguais nas colunas (em cada composto) indicam médias iguais pelo teste de Tukey (p<0,05).

<sup>2</sup> Condições dos ensaios: 1 (20 °C/0 rpm); 2 (20 °C/400 rpm); 3 (80 °C/0 rpm); 4 (80 °C/400 rpm); 5 (50 °C/200 rpm).

<sup>3</sup> Ácido 5-cafeoilquínico.

O aumento da taxa inicial de extração em sólidos de menor granulometria pode ser atribuído ao aumento da área de contato entre a fase líquida e a fase sólida. Assim, o solvente tem maior acesso aos compostos de interesse facilitando a transferência de massa no meio (ĆUJIĆ *et al.*, 2015).

A influência positiva do uso de partículas de tamanhos menores em extrações já foi observada em diferentes tipos de pesquisa. Torun *et al.* (2014) observaram um aumento na extração aquosa de sólidos solúveis, compostos fenólicos e flavonóides de folhas de sálvia utilizando tamanhos menores de partículas, o estudo foi desenvolvido empregando folhas com tamanhos variando entre 2 e 8 mm.

Radha Krishnan *et al.* (2013) verificaram a influência de diferentes tamanhos de partícula (2,8 mm a  $\leq 0,5$  mm) de duas especiarias (*S. aromaticum* e *C. cássia*) no rendimento da extração etanólica em um extrator Soxhlet. O rendimento obtido para os ensaios reproduzidos com as partículas de menor tamanho foi três vezes maior que os valores encontrados para a fração de maior tamanho.

Jensen e Zanoelo (2012) avaliaram o efeitos de diferentes tamanhos de partículas na extração aquosa de sólidos solúveis de folhas de erva-mate com diâmetros médios de 0,49 e 0,57 mm. Concluíram que o efeito do tamanho de partícula é mais evidente a altas temperaturas e tempos longos de extração.

#### 5.2.1 Avaliação da Influência da Temperatura e Agitação na Extração de Compostos Bioativos

Para a análise estatística do delineamento experimental foram utilizados os dados de extração obtidos com a erva-mate cancheada nos tempos de 30 e 180 minutos que representam o tempo utilizado na indústria e o maior tempo de extração utilizado no presente trabalho, respectivamente. A seguir estão apresentados os gráficos de pareto e as superfícies de contorno para cada composto bioativo quantificado em função das variáveis temperatura e agitação (FIGURAS 5.4 e 5.5).

Através da FIGURA 5.4 pode-se observar que a temperatura foi uma variável de processo significativa positiva em todas as respostas para ambos os tempos, ou seja, o uso de temperaturas mais altas acarreta em aumento da extração de todos os compostos bioativos. O uso da agitação também contribui significativamente no incremento da extração de bioativos, exceto nos teores de 5-CQA e rutina no tempo

de 180 minutos. A interação temperatura versus agitação foi significativa somente para a cafeína no tempo de 30 minutos, onde um aumento simultâneo de temperatura e agitação reduz a extração desse componente.

Por meio das superfícies de contorno (FIGURA 5.5) pode-se confirmar a influência das variáveis estudadas (temperatura e agitação) na extração dos compostos fenólicos (5-CQA e rutina) e metilxantinas (cafeína e teobromina) da erva-mate. De maneira geral, observa-se que o aumento da temperatura favorece a extração de todos os componentes, assim como a agitação, porém com maior intensidade. Nos casos em que a agitação não foi significativa (tempo de 180 minutos – 5-CQA e rutina) verifica-se que o incremento da variável pouco influencia as respostas. Assim, considerando todas as respostas obtidas nos níveis de temperatura e agitação avaliados para os tempos de 30 e 180 minutos de extração, a condição que maximiza a extração dos compostos bioativos é a de 80 °C e 400 rpm.

O aumento da extração de compostos bioativos pelo uso de temperaturas elevadas pode estar associado à possível ruptura da parede celular e aumento da solubilidade que ocorre em matrizes vegetais através do aquecimento facilitando a lixiviação destes componentes para o meio (TORUN *et al.*, 2014; BOATENG *et al.*, 2007, CACACE e MAZZA, 2003). A contribuição positiva do uso da agitação em extrações sólido-líquido pode estar relacionada ao fato de favorecer a circulação do solvente compensando a diminuição do gradiente criada pelo aumento da concentração do soluto (SUBRAMANIAN, CHANDINI e SHARMA, 2014).

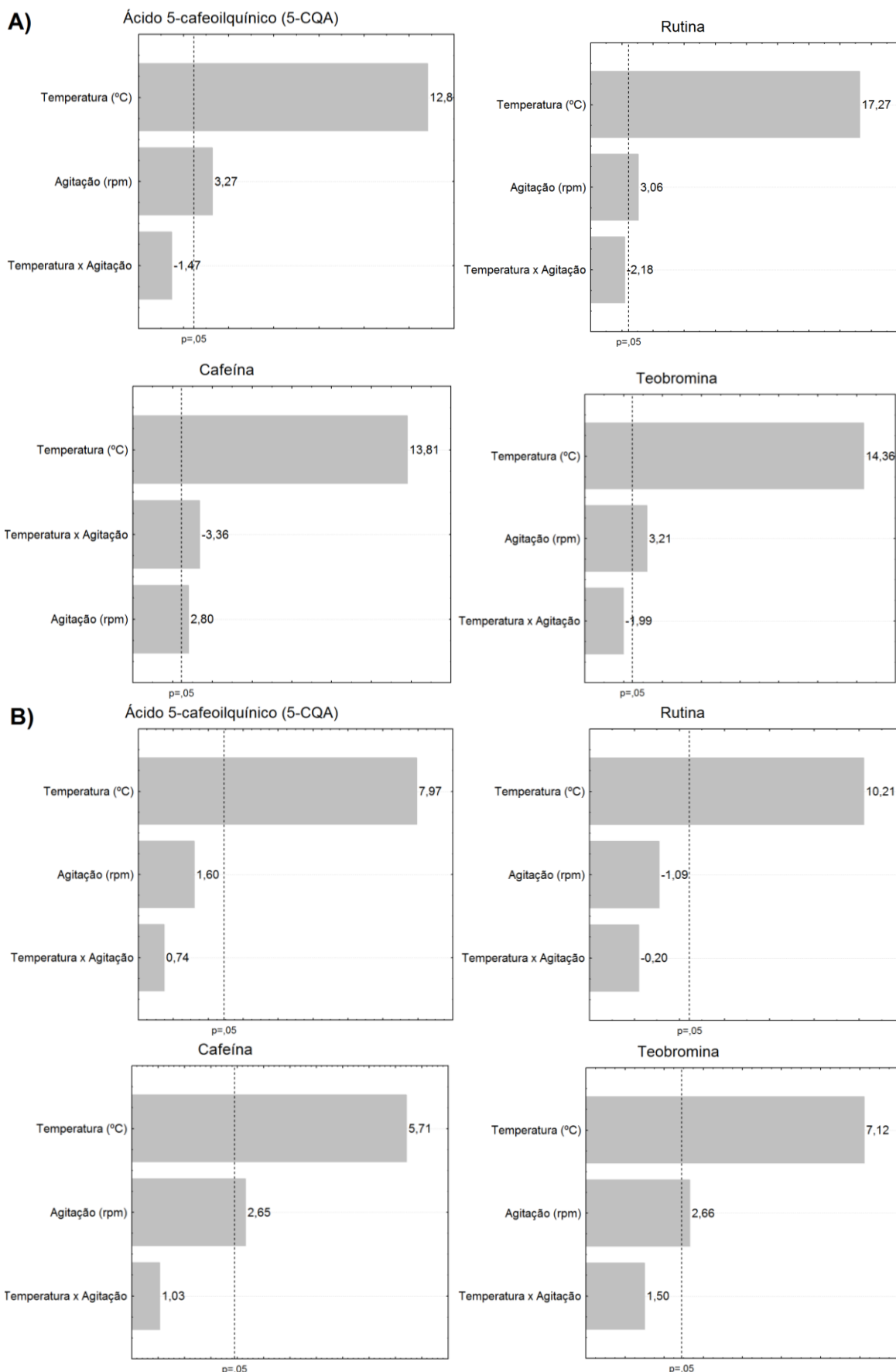


FIGURA 5.4 - GRÁFICOS DE PARETO PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS DOS EXTRATOS OBTIDOS COM ERVA-MATE CANCHEADA FRENTE AS VARIAÇÕES DE TEMPERATURA E AGITAÇÃO. A) 30 MINUTOS; B) 180 MINUTOS



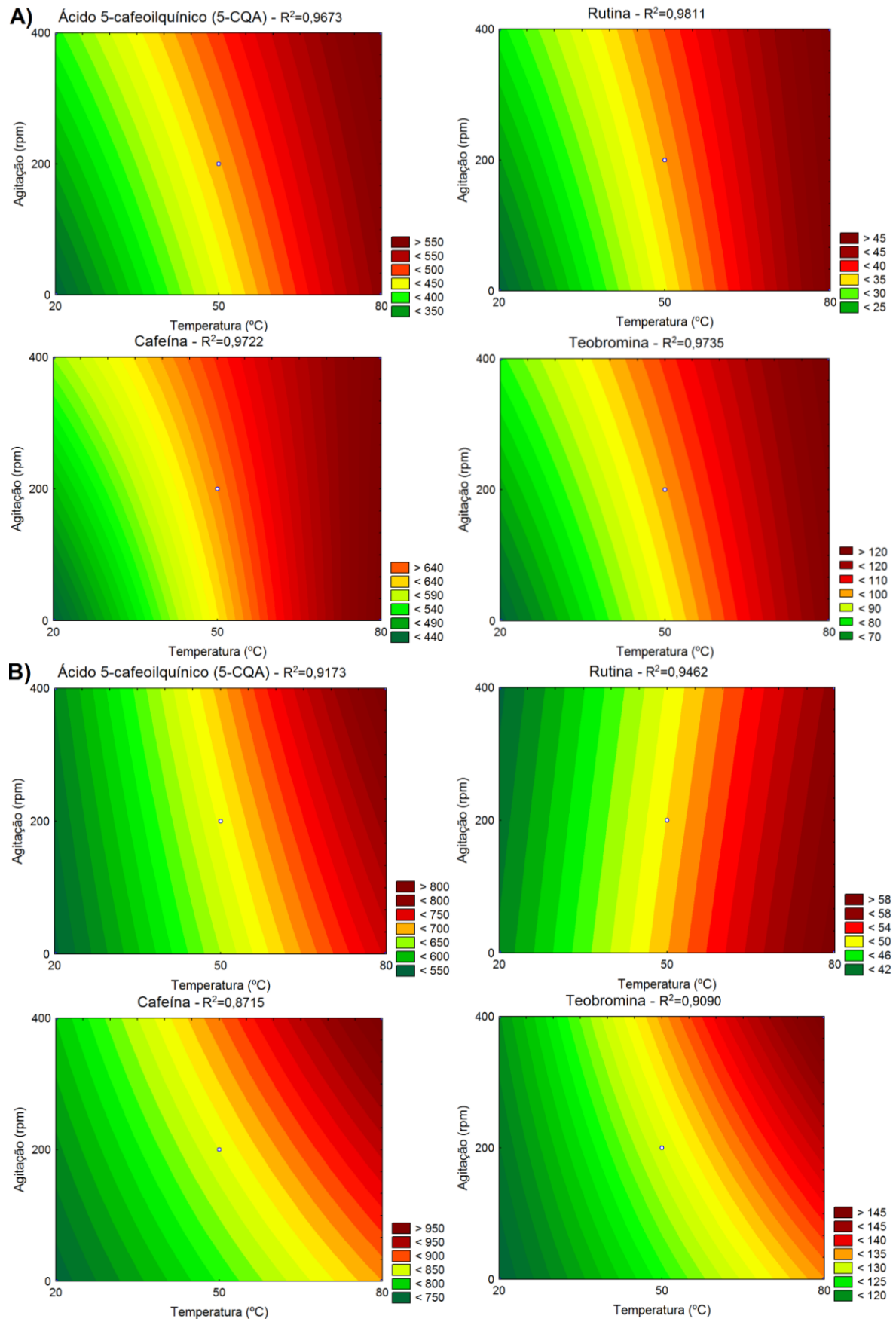


FIGURA 5.5 - SUPERFÍCIES DE CONTOURO PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS DOS EXTRATOS OBTIDOS COM ERVA-MATE CANCHEADA. A) 30 MINUTOS; B) 180 MINUTOS

### 5.2.2 Cinética da Extração de Compostos Bioativos

A cinética do processo de extração aquosa de compostos bioativos da erva-mate cancheada foi avaliada estatisticamente em todas as condições de temperatura e agitação determinadas pelo delineamento (TABELA 4.1). De forma geral, o perfil cinético encontrado em todos os ensaios cinéticos realizados foram semelhantes. Desta forma, serão ilustrados somente os dados obtidos na condição de temperatura e agitação que maximiza a extração de bioativos (80 °C e 400 rpm), discutida na seção 5.2.1. Na FIGURA 5.6, encontram-se as curvas cinéticas para os teores de ácido 5-cafeoilquínico, rutina, cafeína e teobromina.

As curvas apresentam o perfil característico que consiste em uma elevada taxa de extração nos primeiros minutos seguida por um período mais lento que tende a um equilíbrio.

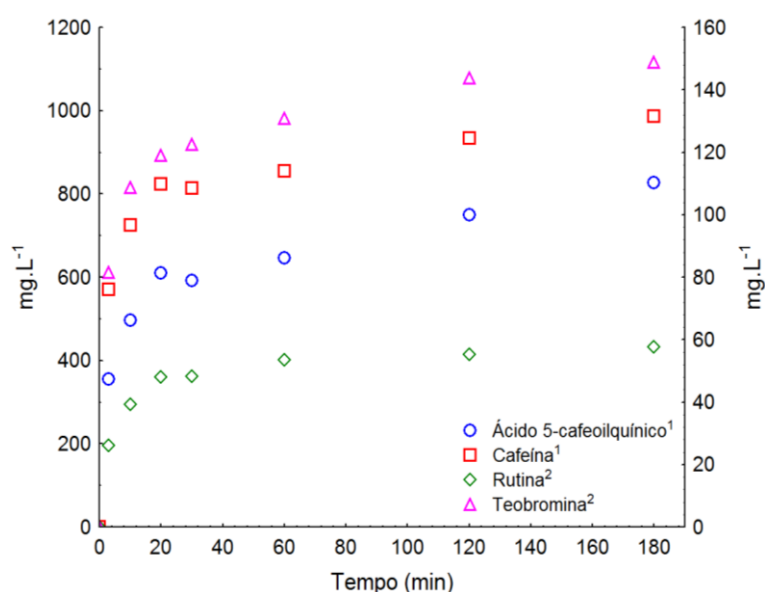


FIGURA 5.6 - CURVAS CINÉTICAS DOS COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES NO EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE CANCHEADA OBTIDO NAS CONDIÇÕES DE 80 °C E 400 RPM

<sup>1</sup> Concentração (mg.L<sup>-1</sup>) referente ao eixo da esquerda.

<sup>2</sup> Concentração (mg.L<sup>-1</sup>) referente ao eixo da direita.

Em todas as respostas os valores obtidos apresentaram diferença significativa pela Análise de Variância (ANOVA). Através dos dados apresentados na TABELA 5.5 pode-se confirmar que as maiores concentrações foram as encontradas nos maiores tempos de extração (120 e 180 minutos), onde as médias são estatisticamente iguais ( $p < 0,05$ ).

Durante o processo, houve a redução da taxa de extração para todos os compostos entre 96-97%, sendo a taxa final encontrada (180 minutos) de 4,59; 0,32; 5,49; 0,83 mg.L<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> para 5-CQA, rutina, cafeína e teobromina, respectivamente. Devido à essa redução ao longo do tempo, pode-se dizer que o tempo máximo adotado de 180 minutos é adequado, levando em conta que maiores tempos de processamento demandam gasto energético frente a um ganho de extração muito pequeno.

O tempo de infusão depende do que se deseja extrair da matriz vegetal, por exemplo, compostos de interesse, sólidos solúveis ou a cor podem ser o fator determinante (ASHURT, 2005). Neste caso, o tempo de 30 minutos foi escolhido para a continuação do trabalho, pois as concentrações dos compostos encontradas para este tempo são adequadas, representando 71,61%; 83,75%; 82,53%; 82,38% dos valores encontrados no maior tempo de extração para 5-CQA, rutina, cafeína e teobromina, respectivamente. Além disso, a redução do tempo de extração em temperaturas elevadas de processo representa economia de energia. Berté *et al.* (2011) utilizaram o tempo de 30 min de extração (85 °C) com o intuito de obter erva-mate solúvel através de *Spray Drying*.

TABELA 5.5 - CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS AO LONGO DO TEMPO NO EXTRATO DE ERVA-MATE CANCHEADA OBTIDO NAS CONDIÇÕES DE 80 °C E 400 RPM<sup>1</sup>

TEMPO (min)	5-CQA <sup>2</sup>	RUTINA <sup>2</sup>	CAFEÍNA <sup>2</sup>	TEOBROMINA <sup>2</sup>
3	355,73±6,68 <sup>e</sup>	26,16±3,00 <sup>c</sup>	570,86±17,67 <sup>e</sup>	81,57±2,70 <sup>d</sup>
10	496,21±13,01 <sup>d</sup>	39,31±1,71 <sup>b</sup>	725,88±5,29 <sup>d</sup>	108,73±5,29 <sup>c</sup>
20	610,28±0,95 <sup>cd</sup>	48,03±2,85 <sup>ab</sup>	823,69±3,36 <sup>cd</sup>	119,13±0,98 <sup>bc</sup>
30	591,81±10,21 <sup>cd</sup>	48,31±0,31 <sup>ab</sup>	814,90±1,14 <sup>cd</sup>	122,56±0,31 <sup>bc</sup>
60	645,76±31,66 <sup>bc</sup>	53,45±1,27 <sup>a</sup>	854,67±5,12 <sup>bc</sup>	130,82±1,03 <sup>ab</sup>
120	750,33±32,49 <sup>ab</sup>	55,24±3,76 <sup>a</sup>	934,58±48,01 <sup>ab</sup>	143,79±8,63 <sup>a</sup>
180	826,38±60,07 <sup>a</sup>	57,68±3,29 <sup>a</sup>	987,36±49,19 <sup>a</sup>	148,76±7,22 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Letras iguais nas colunas indicam médias iguais pelo teste de Tukey (p<0,05).

<sup>2</sup> Concentração em mg.L<sup>-1</sup>.

### 5.2.3 Análise da Cinética de Extração

Os modelos cinéticos de transferência de massa apresentaram bons ajustes aos dados experimentais de extração de compostos bioativos da erva-mate nas diferentes condições de temperatura e agitação. Na TABELA 5.6 estão apresentados

os dados das regressões, onde a concentração de equilíbrio adotada foi a obtida no maior tempo de extração (180 minutos) para cada composto.

O coeficiente de transferência de massa ( $k$ ) é significativamente influenciado pela temperatura de extração, onde os maiores valores foram encontrados na temperatura mais elevada (80 °C), exceto para a concentração de 5-CQA que em 50 °C apresentou valor semelhante ao de 80 °C. A agitação não foi uma variável significativa para este parâmetro nos níveis avaliados.

Para o coeficiente de difusão ( $D$ ), tanto a temperatura quanto a agitação foram variáveis significativas, apenas para a teobromina a rotação não influenciou significativamente a extração. Isto pode ser confirmado, pois os valores encontrados para este composto em uma mesma temperatura com ou sem agitação são estatisticamente iguais ( $p < 0,05$ ).

O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) representa o quanto o modelo consegue explicar os dados observados, portanto quanto maior o valor de  $R^2$  melhor é o modelo aplicado. De forma geral, o modelo difusivo apresentou melhor ajuste aos dados experimentais com o  $R^2$  variando de 0,911 a 0,985 quando comparado ao convectivo que teve valores de  $R^2$  entre 0,794 e 0,983.

A temperatura foi a variável que contribuiu significativamente para o rendimento da extração em termos de compostos bioativos como um todo. As moléculas de bioativos encontram-se nas mais diversas partes das plantas (AZMIR *et al.*, 2013). Quando as folhas são submetidas a temperaturas elevadas, diversos fenômenos ocorrem e facilitam a extração de compostos intracelulares e extracelulares. Segundo Setyaningsih *et al.* (2015), a mobilidade molecular e a difusividade são maiores, a viscosidade do solvente diminui, além disso, as paredes celulares se tornam mais permeáveis, permitindo que o soluto lixivie na solução. Porém, as diferentes estruturas químicas e reatividades entre os compostos avaliados contribuem para que a eficiência da extração seja diferente para cada um.

O melhor ajuste do modelo de transferência de massa que leva em consideração a difusão aos dados, pode ser explicado pelo fato de que, na maioria dos casos, a difusão intra-partícula do componente solúvel controla a taxa de extração. O processo de extração pode ser separado em quatro etapas principais: (1) solvente entra na matriz sólida por difusão; (2) dissolução do soluto interno no solvente; (3) difusão do soluto no solvente dentro do sólido e a sua migração para a

superfície; (4) transferência externa do soluto por difusão e convecção a partir da superfície do sólido com o meio (MEULEMIESTRE *et al.*, 2015). Além disso, apesar da agitação influenciar significativamente a extração (seção 4.2.1) pode-se observar que, de maneira geral, o seu uso aumenta pouco o rendimento de compostos bioativos. Como o fenômeno da convecção é dependente da agitação, ou movimento do fluido, confirma-se que o processo de extração dos compostos bioativos é mais controlado pela difusão nos níveis avaliados.

Os ajustes encontrados para cada caso para explicar o comportamento dos dados experimentais obtidos podem ser visualizados na FIGURA 5.7.

TABELA 5.6 - AJUSTE DOS MODELOS CINÉTICOS DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA ERVA-MATE<sup>1</sup>

COMPOSTO	MODELO	PARÂMETROS	20 °C 0 rpm	20 °C 400 rpm	80 °C 0 rpm	80 °C 400 rpm	50 °C 200 rpm
5-CQA	Convectivo	$C_{eq}$ (mg.L <sup>-1</sup> )*	554,07±1,66	578,65±8,69	759,68±0,84	826,38±0,58	644,88±0,59
		$k \times 10^2$	2,86±0,22 <sup>b</sup>	4,89±0,87 <sup>ab</sup>	6,95±1,55 <sup>a</sup>	7,55±1,88 <sup>a</sup>	6,98±1,13 <sup>a</sup>
		$R^2$	0,981	0,888	0,842	0,794	0,924
	Difusivo	$D \times 10^5$	5,27±0,68 <sup>c</sup>	9,19±0,94 <sup>c</sup>	29,12±5,42 <sup>b</sup>	41,20±6,93 <sup>a</sup>	13,76±1,63 <sup>c</sup>
		$R^2$	0,970	0,979	0,959	0,972	0,976
RUTINA	Convectivo	$C_{eq}$ (mg.L <sup>-1</sup> )*	42,33±3,54	40,83±0,97	59,85±0,68	57,68±0,71	49,54±0,83
		$k \times 10^2$	2,07±0,15 <sup>b</sup>	4,40±0,70 <sup>b</sup>	11,20±2,40 <sup>a</sup>	12,09±2,13 <sup>a</sup>	6,08±0,81 <sup>b</sup>
		$R^2$	0,983	0,914	0,890	0,932	0,946
	Difusivo	$D \times 10^5$	3,88±0,68 <sup>c</sup>	8,40±0,74 <sup>bc</sup>	20,83±3,58 <sup>a</sup>	23,49±3,42 <sup>a</sup>	12,15±1,23 <sup>b</sup>
		$R^2$	0,978	0,985	0,952	0,968	0,983
CAFEÍNA	Convectivo	$C_{eq}$ (mg.L <sup>-1</sup> )*	742,78±7,84	790,31±41,12	879,73±5,88	987,36±4,34	851,13±6,29
		$k \times 10^2$	3,13±0,31 <sup>b</sup>	5,59±1,06 <sup>b</sup>	22,98±4,70 <sup>a</sup>	18,60±5,15 <sup>a</sup>	8,59±1,82 <sup>b</sup>
		$R^2$	0,969	0,876	0,938	0,853	0,874
	Difusivo	$D \times 10^5$	5,88±0,61 <sup>b</sup>	10,86±1,28 <sup>b</sup>	42,17±7,65 <sup>a</sup>	30,39±7,43 <sup>a</sup>	16,50±2,65 <sup>b</sup>
		$R^2$	0,980	0,973	0,966	0,911	0,955
TEOBROMINA	Convectivo	$C_{eq}$ (mg.L <sup>-1</sup> )*	115,73±2,92	119,62±7,08	134,69±0,10	148,76±0,07	130,96±0,07
		$k \times 10^2$	3,09±0,23 <sup>b</sup>	4,98±0,88 <sup>b</sup>	18,65±4,05 <sup>a</sup>	16,08±4,21 <sup>a</sup>	8,54±1,31 <sup>b</sup>
		$R^2$	0,982	0,890	0,922	0,861	0,938
	Difusivo	$D \times 10^5$	5,76±0,71 <sup>b</sup>	9,51±0,95 <sup>b</sup>	42,98±8,69 <sup>a</sup>	53,51±10,63 <sup>a</sup>	21,09±2,60 <sup>b</sup>
		$R^2$	0,973	0,980	0,964	0,970	0,979

<sup>1</sup> Letras iguais nas linhas indicam médias iguais pelo teste de Tukey (p<0,05).

\* Valor experimental obtido no maior tempo de extração utilizado (180 min).

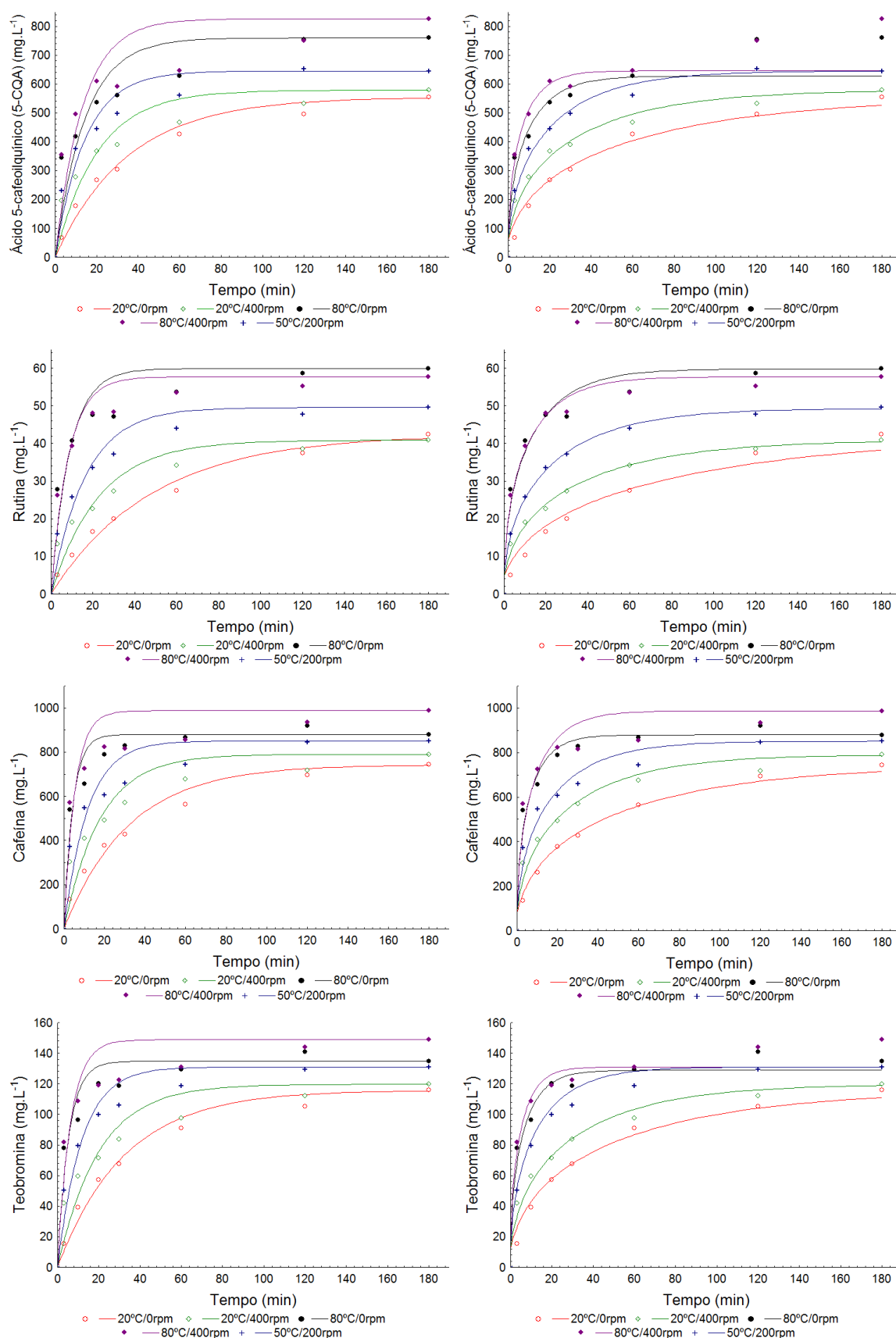


FIGURA 5.7 - AJUSTE DOS MODELOS CONVECTIVO (ESQUERDA) E DIFUSIVO (DIREITA) PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS OBTIDOS DA EXTRAÇÃO AQUOSA DE ERVA-MATE EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E AGITAÇÃO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Linhas representam os valores preditos pelos modelos. Pontos representam os valores experimentais.

### 5.3 CLARIFICAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE POR MEMBRANAS POROSAS

#### 5.3.1 Microfiltração e Ultrafiltração em Sistema Fechado

O extrato aquoso de erva-mate bruto foi submetido à clarificação por meio de três membranas diferentes, sendo duas de composição polimérica e uma cerâmica. Inicialmente, ensaios em sistema fechado foram realizados a fim de avaliar a influência da pressão no fluxo de permeado. Neste modo de operação, evita-se a concentração da alimentação, resultado da remoção contínua do permeado. Na FIGURA 5.8 estão apresentados os valores de fluxo obtidos para cada membrana em diferentes pressões de operação.

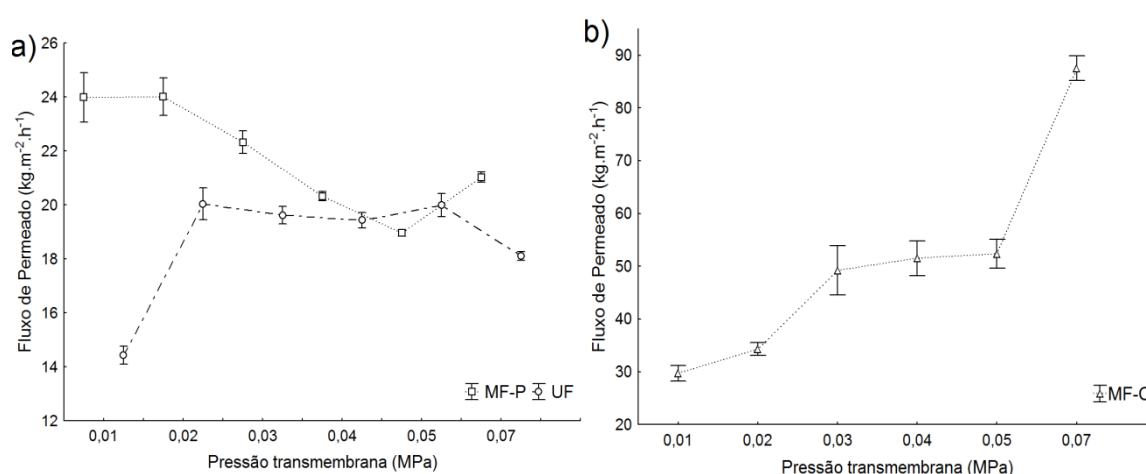


FIGURA 5.8 - FLUXO DE PERMEADO NAS DIFERENTES MEMBRANAS E PRESSÕES DE OPERAÇÃO

a) MF-P: microfiltração membrana polimérica; UF: ultrafiltração. b) MF-C: microfiltração membrana cerâmica.

O fluxo de permeado foi significativamente maior para a membrana cerâmica que apresentou aumento de fluxo com o aumento da pressão de operação. O comportamento entre as membranas poliméricas (micro e ultrafiltração) foi semelhante, onde houve aumento do fluxo entre as duas primeiras pressões e posterior decréscimo ou estabilização nas pressões seguintes. Além disso, os valores encontrados entre elas foram muito próximos e estatisticamente iguais pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para as pressões entre 0,03 e 0,05 MPa. Este

comportamento pode estar relacionado ao efeito de compactação das membranas, pois normalmente o aumento da pressão provoca aumento no fluxo.

Na TABELA 5.7 encontram-se os valores de permeabilidade hidráulica encontrados para cada membrana utilizada, bem como o grau de obstrução de cada uma após o ensaio com extrato de erva-mate. As membranas poliméricas de micro e ultrafiltração apresentaram valores de permeabilidade hidráulica iniciais próximos (diferença menor que 5,0%), porém a de microfiltração teve o maior grau de obstrução. A membrana cerâmica apresentou permeabilidade hidráulica menor, porém com o menor grau de obstrução.

TABELA 5.7 - PERMEABILIDADE HIDRÁULICA DAS DIFERENTES MEMBRANAS UTILIZADAS

MEMBRANA	PERMEABILIDADE HIDRÁULICA – LIMPA (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> .MPa <sup>-1</sup> )	PERMEABILIDADE HIDRÁULICA – SUJA (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> .MPa <sup>-1</sup> )	GRAU DE OBSTRUÇÃO (%) <sup>1</sup>
MF-C*	3476,38	1806,67	48,03
MF-P*	3777,40	1023,67	72,90
UF*	3626,76	1385,74	61,79

<sup>1</sup> Grau de obstrução = (1-Permeabilidade suja / Permeabilidade Limpa) %

\* MF-C: microfiltração membrana cerâmica; MF-P: microfiltração membrana polimérica; UF: ultrafiltração.

Os extratos brutos e clarificados foram analisados a fim de determinar o coeficiente de rejeição em termos de turbidez e compostos bioativos (TABELA 5.8). No processo de clarificação deseja-se obter um extrato livre de turbidez com a menor perda possível de nutrientes, como os compostos bioativos. Neste estudo, todas as membranas avaliadas clarificaram o extrato bruto de erva-mate de maneira satisfatória com redução da turbidez inicial (207 ± 25 NTU) para próximo de zero, correspondendo a um coeficiente de rejeição de 100 %. A membrana cerâmica foi a que mais reteve os bioativos, seguida pela polimérica de ultrafiltração para todos os compostos. A maior retenção encontrada na MF-C pode estar associada à possível adsorção dos compostos no material da membrana, enquanto que na UF o tamanho da abertura do poro pode ter influenciado.

A escolha da membrana para continuação dos estudos baseou-se principalmente na menor retenção de bioativos, pois são compostos de interesse em uma bebida preparada a base de extratos de ervas. Assim, a membrana de microfiltração polimérica foi submetida ao ensaio cinético em batelada.



TABELA 5.8 - COEFICIENTES DE REJEIÇÃO DE TURBIDEZ E COMPOSTOS BIOATIVOS NAS DIFERENTES MEMBRANAS

MEMBRANA	TURBIDEZ (%)	5-CQA (%)	RUTINA (%)	CAFEÍNA (%)	TEOBROMINA (%)
MF-C*	100	22,6	29,1	22,7	29,0
MF-P*	100	17,5	22,2	12,8	14,5
UF*	100	20,2	27,8	16,6	16,5

\* MF-C: microfiltração membrana cerâmica; MF-P: microfiltração membrana polimérica; UF: ultrafiltração.

### 5.3.2 Cinética da Microfiltração em Batelada

A microfiltração com membrana de polieterimida resultou em um extrato clarificado com redução da turbidez a próximo de zero durante todo o processo, garantindo um produto isento de moléculas suspensas e colóides que podem causar problemas tecnológicos (precipitação) quando extratos de ervas são utilizados na indústria de bebidas. Liang e Xu (2001) mostraram que o tamanho médio das partículas responsáveis pela formação de creme ou “neblina” que ocorre no resfriamento de chás, do tipo pronto para beber, pela formação de complexos com polifenóis, é de 0,50  $\mu\text{m}$ . Como o tamanho da abertura do poro da membrana utilizada é de 0,40  $\mu\text{m}$  pode-se presumir que este fenômeno também é minimizado através da clarificação do extrato.

Na FIGURA 5.9 estão apresentadas as variações do fluxo de permeado e do fator de concentração durante a microfiltração em membrana de polieterimida (PEI) na pressão de operação de 0,02 MPa. No início, há uma queda brusca no fluxo de permeado, seguida por um declínio gradual e posterior estabilização, resultando em um fluxo final reduzido em aproximadamente 65,0 % do inicial. Durante o processo em batelada, há a constante remoção do permeado e por isso, o fator de concentração aumentou ao longo do tempo, atingindo um valor próximo a 2,0, que representa a remoção de cerca de 50,0% da massa de solução inicialmente depositada no tanque de alimentação.

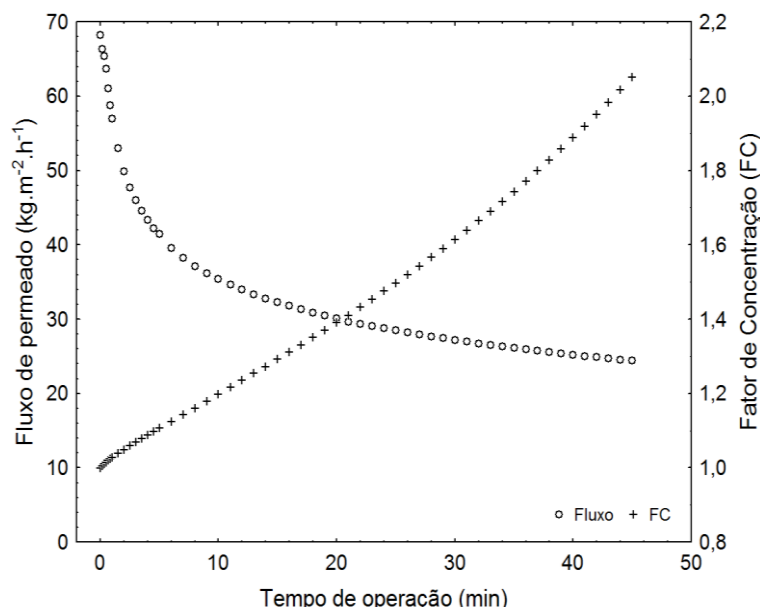


FIGURA 5.9 - PERFIL DE FLUXO DE PERMEADO E FATOR DE CONCENTRAÇÃO PARA MICROFILTRAÇÃO EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA (P=0,02 MPa)

A partir da FIGURA 5.9, observa-se o aumento crescente do fator de concentração (FC), no entanto, o fluxo de permeado na região pseudo-estacionária varia muito pouco. Desta forma, verifica-se que a redução do volume da batelada, no montante de 50 % do valor inicial, pouco influi no fluxo de permeado final. A título comparativo, a TABELA 5.9 apresenta os valores de fluxo em determinado tempos de operação, associados com o fator de concentração da batelada alimentada no presente estudo.

TABELA 5.9 - VARIAÇÃO DO FLUXO DE PERMEADO AO LONGO DO TEMPO EM RELAÇÃO AO FATOR DE CONCENTRAÇÃO (FC) DURANTE A CLARIFICAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DA ERVA-MATE EM REGIME DE BATELADA

TEMPO (min)	FLUXO DE PERMEADO (kg.m <sup>-2</sup> .h <sup>-1</sup> )	FC	ΔFLUXO DE PERMEADO (%)	ΔFC
15	32,26	1,30	-	-
20	30,12	1,40	-6,64	7,60
25	28,47	1,50	-5,47	7,73
30	27,19	1,62	-4,50	7,83
35	26,10	1,75	-3,99	8,01
40	25,20	1,90	-3,47	8,33

Após o intervalo de 10 a 15 minutos de operação, pode-se observar duas situações. Primeiro, já está consolidada a resistência devido a polarização por concentração, que relaciona o equilíbrio entre a ação das forças que induzem a retenção na superfície: gradiente de concentração e efeito de pressão transmembrana. Segundo, as ações de cisalhamento, devido ao escoamento

tangencial, promovem a ação de renovação da superfície, desestabilizando a camada de polarização e lixiviando a superfície da membrana. Portanto, a medida que transcorre a operação, a variação do FC aumenta, enquanto que o decaimento do fluxo de permeado diminui, ou seja, tende a se manter mais estável, aproximando-se de uma operação pseudo-estacionária.

Desta forma, a unidade de clarificação do extrato de erva-mate, por microfiltração tangencial, pode ser operacionalizada em regime de batelada, removendo o extrato sem a necessidade de correção do volume inicial, via Diafiltração. Com a manutenção dos fluxos de permeado satisfatórios ao longo do tempo, aproxima-se a operação de clarificação a um regime estacionário.

A variação dos compostos bioativos entre as correntes de alimentação, permeado e retentado durante o processo de microfiltração pode ser verificada através dos coeficientes de rejeição (CR) e transmitância (Tr) (FIGURA 5.10). Os baixos valores de CR encontrados (<8,0%) indicam que a membrana não retém tais compostos e, por isso, é uma boa opção para clarificar o extrato de erva-mate, garantindo um produto final límpido e com altos teores de compostos bioativos.

O coeficiente de transmitância relaciona as concentrações dos compostos bioativos do permeado com as do retentado. Os altos valores de Tr (entre 94,41 e 98,47%, em média) indicam que no processo de clarificação a deposição ou acúmulo de compostos bioativos na membrana é mínimo, pois a concentração na corrente de retentado é muito próxima a presente na corrente de permeado.

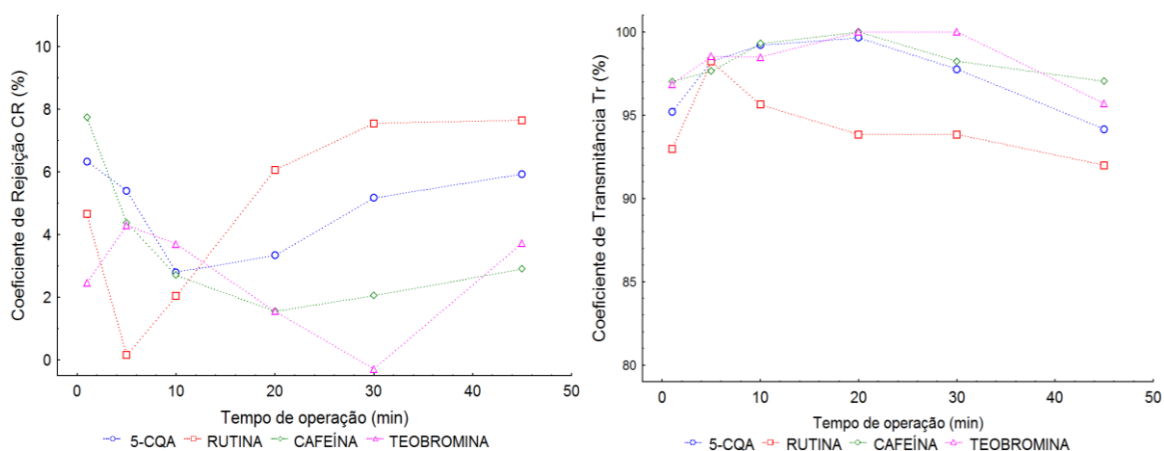


FIGURA 5.10 - VARIAÇÃO DOS COEFICIENTES DE REJEIÇÃO (ESQUERDA) E TRANSMITÂNCIA (DIREITA) PARA OS COMPOSTOS BIOATIVOS DURANTE A MICROFILTRAÇÃO EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA (P=0,02 MPA)

A partir da TABELA 5.10 pode-se afirmar que a concentração por polarização é responsável por grande parte da resistência total do processo de clarificação do extrato de erva-mate por microfiltração em membrana polimérica. Em termos percentuais, a resistência devido à polarização é responsável por 66,13% da resistência total, seguida pela resistência devido ao *fouling* (20,31%) e intrínseca a membrana (13,56%).

Argyle e Bird (2014) também verificaram que a resistência devido a concentração por polarização foi predominante frente a resistência devido ao *fouling* em microfiltração de chá preto (*Camelia sinensis*) utilizando membrana de polisulfona (tamanho de poro 0,5; 0,9 e 1,5  $\mu\text{m}$ ). Concluíram que, este fato, se deve à alta concentração de sólidos na alimentação, o que favorece a formação de um gradiente de concentração na superfície da membrana.

TABELA 5.10 - VALORES ESTIMADOS DAS RESISTÊNCIAS DO PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO

RESISTÊNCIA ( $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1} \times 10^{-6}$ )	VALOR
Intrínseca a Membrana ( $R_M$ )	0,43 $\pm$ 0,02
Devido ao <i>Fouling</i> ( $R_F$ )	0,65 $\pm$ 0,09
Devido à Polarização ( $R_P$ )	2,12 $\pm$ 0,15
Total	3,20 $\pm$ 0,13

Na TABELA 5.11 estão apresentados os parâmetros de ajuste dos modelos de bloqueio de poros para a microfiltração do extrato de erva-mate. O modelo de bloqueio parcial ( $n = 1,0$ ) apresentou o melhor ajuste aos dados com  $R^2$  de 0,98 e valores de soma dos quadrados dos resíduos (SQR) e erro médio (EM) baixos em comparação aos observados nos demais modelos.

TABELA 5.11 - PARÂMETROS DOS MODELOS DE BLOQUEIO DE POROS PARA A MICROFILTRAÇÃO DE EXTRATO DE ERVA-MATE EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA

PARÂMETROS	BLOQUEIO SUPERFICIAL $n=2,0$	BLOQUEIO INTERNO $n=1,5$	BLOQUEIO PARCIAL $n=1,0$	TORTA FILTRANTE $n=0$
$K_n$	9,85 $\pm$ 0,51	0,18 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,01	5,4 $\times 10^{-3} \pm 2,0 \times 10^{-4}$
$R^2$	0,9374	0,644	0,9802	0,8554
SQR	522,12	2972,39	164,92	157,93
EM	7,72	18,72	4,12	4,14

O extrato aquoso de erva-mate apresenta composição complexa, contando com componentes básicos que contribuem diretamente com o seu valor nutricional (açúcares, gorduras e proteínas) além de diversos compostos de interesse, como os bioativos. Assim, pode-se presumir que haverá partículas dos mais variados

tamanhos e configurações o que indica que o modelo de bloqueio parcial pode descrever o processo. Este considera que quando as partículas apresentam tamanhos próximos ao do poro, podem selá-lo quando chegam à sua superfície. Podendo ocorrer um efeito de obstrução superficial somado ao eventual efeito de restrição interna, com aglutinação de partículas no interior dos poros. Ambos os efeitos, porém, não ocorrem de forma completa, o que permite obter um fluxo estável na região estabelecida como pseudo-estacionária.

O modelo de bloqueio superficial também apresentou bom ajuste aos dados experimentais, podendo confirmar que as partículas contidas no extrato apresentam tamanhos próximos ou maiores ao do poro da membrana (0,40  $\mu\text{m}$ ). Neste modelo considera-se que as partículas possuem tamanho médio maior que o poro, causando obstrução na sua abertura. A falta de ajustado modelo de bloqueio interno corrobora com os dados acima discutidos, pois este considera que as partículas possuem tamanho médio menor que a abertura do poro, podendo ficar retidas no seu interior. Como o selamento interno não é completo, obtém-se um fluxo estável ao longo do tempo, como o perfil cinético indicado na FIGURA 5.9.

O modelo que considera a formação de uma torta filtrante apresentou  $R^2$  menor, porém obteve valores baixos de SQR e EM. A partir de uma análise geral dos modelos de bloqueio de poro pode-se verificar que o tamanho médio das partículas presente no extrato são maiores que a abertura do poro da membrana e, neste caso, podem levar a formação de torta filtrante durante o processo de microfiltração. Além disso, a formação da torta pode ter ocorrido pela possível presença de partículas sólidas no extrato, pois a pré-filtração realizada contou com peneira de abertura de malha de 75  $\mu\text{m}$  muito maior que o poro da membrana (0,40  $\mu\text{m}$ ).

Através da FIGURA 5.11 pode-se observar que os modelos de bloqueio parcial, bloqueio superficial e torta filtrante foram os que mais se aproximaram dos valores experimentais, respectivamente. O modelo de bloqueio interno não apresenta o mesmo comportamento que os demais e desta forma não pode descrever o processo de microfiltração de extrato de erva-mate em membrana de polieterimida.

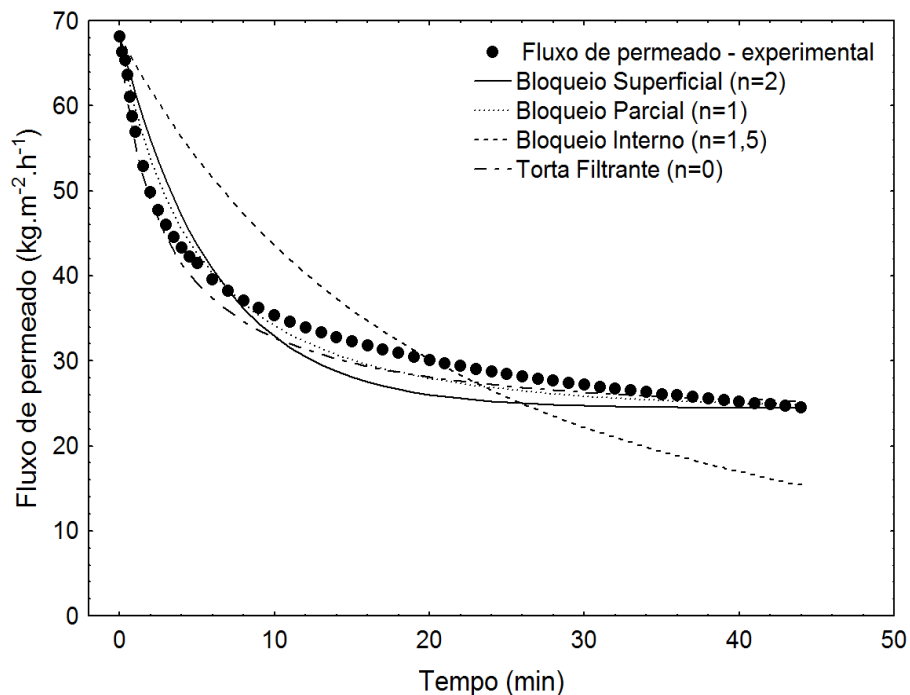


FIGURA 5.11 - AJUSTE DOS MODELOS DE BLOQUEIO DE POROS PARA A MICROFILTRAÇÃO DE EXTRATO DE ERVA-MATE EM MEMBRANA DE POLIETERIMIDA

Nas condições estudadas, verifica-se que a clarificação do extrato aquoso da erva-mate empregando processo de separação por membranas poliméricas de polieterimida apresenta potencial tecnológico para obtenção de um produto clarificado. Alguns pontos merecem destaque:

- Remoção plena da turbidez sem a necessidade de aditivos químicos e com baixa demanda energética térmica (processo sem aquecimento);
- Baixas perdas de compostos bioativos durante a clarificação;
- Processo em batelada com fluxos de permeado estáveis durante períodos prolongados, para remoção de volumes da ordem de 50 % do montante inicial de extrato aquoso turvo;
- Resistência devido à concentração por polarização predominante no processo;
- Fluxo de permeado associado ao bloqueio parcial e à formação de torta filtrante, devido à complexa composição do extrato.

## 6 CONCLUSÕES

A extração aquosa de sólidos totais, fenólicos totais e teor de compostos bioativos (5-CQA, rutina, cafeína e teobromina) da erva-mate é influenciada por fatores como tamanho da partícula, temperatura, agitação e tempo. Os maiores rendimentos foram os obtidos na condição mais severa de temperatura e agitação utilizada no presente trabalho, 80 °C/400 rpm, porém verificou-se que a agitação influencia de forma menos intensa que a temperatura. Apesar do tempo de 180 minutos apresentar os extratos mais concentrados, observou-se que o tempo de 30 minutos é adequado por resultar em extratos de bom rendimento com consequente redução de gasto energético.

O modelo de transferência de massa difusivo apresentou melhor ajuste aos dados experimentais obtidos para a extração de compostos bioativos, com valores de  $R^2$  variando de 0,911 a 0,985. Fato que pode ser explicado pelo possível controle da taxa de extração através do mecanismo de difusão intra-partícula. O coeficiente de difusão ( $D$ ) é fortemente influenciado tanto pela temperatura quanto pela agitação.

O extrato bruto de erva-mate foi clarificado de maneira satisfatória pelas três membranas estudadas (cerâmica, polieterimida e polietersulfona), removendo 100% da turbidez. Apesar de apresentar os maiores valores de fluxo de permeado, a membrana cerâmica foi a que obteve os maiores coeficientes de rejeição para os compostos bioativos analisados (22,6 a 29,0%). A membrana de polieterimida (PEI) foi escolhida para o estudo cinético da microfiltração do extrato por apresentar a menor rejeição dos compostos de interesse, entre 12,8 e 22,2%.

Na microfiltração com a membrana de PEI, a taxa de permeação manteve-se estável durante o processo em batelada com redução de 50% do volume inicial de extrato bruto, podendo ser operacionalizada sem a necessidade de correção do volume inicial, aproximando o processo de clarificação a um regime estacionário.

Durante o processo de clarificação em batelada, os coeficientes de rejeição foram menores que 8,0% e de transmitância foram maiores que 94,0%, resultando um extrato clarificado com altos teores de compostos bioativos e baixa deposição de tais compostos na membrana.

A resistência devido à concentração por polarização foi responsável por 66,13% da resistência total e, por isso, predominante no processo. O modelo de bloqueio parcial de poros ( $n=1,0$ ) foi o que melhor descreveu os valores de fluxo de permeado experimentais, seguido pelo bloqueio superficial ( $n=2,0$ ) e torta filtrante ( $n=0,0$ ) com valores de  $R^2$  de 0,98; 0,94; 0,85, respectivamente. A falta de ajuste encontrada para o modelo de bloqueio interno indica que as partículas presentes no extrato bruto possuem tamanho médio menor que a abertura do poro.



## REFERÊNCIAS

ANESINI, C.; TURNER, S.; COGOI, L.; FILIP, R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Science and Technology**, v. 45, p. 299-304, 2011.

ARGYLE, I. A.; BIRD, M. R. Microfiltration of high concentration black tea streams for haze removal using polymeric membranes. **Desalination and Water Treatment**, v. 53, p. 1516-1531, 2014.

ASHURST, P. R. **Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices**. 2ª edição. Blackwell Publishing Ltd, 2005. 374 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**. 19ª edição. Washington, D.C. 2002.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 426-436, 2013.

BAJKO, E.; KALINOWSKA, M.; BOROWSKI, P. SIERGIEJCZYK, L. LEWANDOWSKI, W. 5-O-Caffeoylquinic acid: A spectroscopic study and biological screening for antimicrobial activity. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 471-479, 2015.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K. SAMMAN. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2005.

BASSANI, D. C.; NUNES, D. S.; GRANATO, D. Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions and antioxidant activity of roasted yerba-mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) using response surface methodology. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 86, n. 2, p. 923–933, 2013.

BASTOS, D. H. M.; ISHIMOTO, E. Y.; ORTIZ, M.; FERNANDO FERRI, A.; TORRES, E. A. F. S. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 538–543, 2006.

BERNHOF, A. A brief review on bioactive compounds in plants. In: BERNHOFT, A. (Ed.). **Bioactive Compound in Plants Benefits and Risks for Man and Animals**. Oslo: The Norwegian Academy of Science and Letters, 2010. p. 11-17.

BERTÉ, K. A. S.; BEUX, M. R.; SPADA, P. K. W. D. S.; SALVADOR, M.; HOFFMANN-RIBANI, R. Chemical composition and antioxidante activity of yerba-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil, Aquifoliaceae) extract as obtained by Spray Drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5523-5527, 2011.

BERTÉ, K.; RUCKER, N.; HOFFMANN-RIBANI, R. Yerba maté *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. **Phytothérapie**, v.9, p. 180-184, 2011.

BIXBY, M.; SPIELER, L.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sciences**, v. 77, n. 3, p. 345–358, 2005.

BOATENG, J.; VERGHESE, M.; WALKER, L. T.; OGUTU, S. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.). **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1541-1547, 2007.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378-384, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 303, de 07 de novembro de 2002. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Composto de Erva-Mate. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 08 de novembro de 2002.

BUCIĆ-KOJIĆ, A.; PLANINIĆ, M.; TOMAS, S.; BILIĆ, M.; VELIĆ, D. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 236–242, 2007.

CACACE, J. E.; MAZZA, G. Optimization of Extraction of Anthocyanins from Black Currants with Aqueous Ethanol. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 1, p. 240–248, 2003.

CARDOZO JÚNIOR, E. L.; FERRARESE-FILHO, O.; CARDOZO FILHO, F.; FERRARESE, M. L. L.; DONADUZZI, C. M.; STURION, J. A. Methylxanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 553-558, 2007.

CARDOZO JÚNIOR, E. L.; MORAND, C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health - a review. **Journal of Funcional Foods**, v. 21, p. 440-454, 2015.

CASAZZA, A. A.; ALIAKBARIAN, B.; PEREGO, P. Recovery of phenolic compounds from grape seeds: effect of extraction time and solid-liquid ratio. **Natural Product Research**, v. 25, n. 18, p. 1751-1761, 2011.

CHAN, C. H.; YUSOFF, R.; NGOH, G. C. Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 92, p. 1169-1186, 2014.

CHANDINI, S. K.; RAO, L. J.; SUBRAMANIAN, R. Membrane Clarification of Black Tea Extracts. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 8, p. 1926-1943, 2013.

CHANDINI, S. K.; SUBRAMANIAN, R.; RAO, L. J. Application of enzymes in the production of RTD black tea beverages: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.53, p. 180-197, 2012.

CHANDRA, S.; MEJIA, E. G. DE. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3583-3589, 2004.

COELHO, G. C.; GNOATTO, S. B.; BASSANI, V. L.; SCHENKEL, E. P. Quantification of saponins in extractive solution of mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 2, p. 439-443, 2010.

COSTA, S. G. **Erva-Mate**. Curitiba: Secretaria de Estado do Planejamento e Coordenação Geral, Scientia et Labor, 1989.

ĆUJIĆ, N.; SAVIKIN, K.; JANKOVIĆ, T.; PLJEVLJAKUSIĆ, D.; ZDUNIĆ, G.; IBRIĆ, S. Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. **Food Chemistry**, v. 194, p. 135-142, 2015.

CUPERUS, F. P.; NIJHUIS, H. H. Applications of membrane technology to food processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 4, n. 9, p. 277–282, 1993.  
DANIEL, O. **Erva-mate: Sistema de produção e processamento industrial**. Dourados, MS: UFGD, 2009. 288 p.

DAUFIN, G.; ESCUDIER, J.-P.; CARRÈRE, H.; *et al.* Recent and Emerging Applications of Membrane Processes in the Food and Dairy Industry. **Food and Bioproducts Processing**, v. 79, n. 2, p. 89–102, 2001.

DECKER, E. A. Phenolics: Prooxidants or Antioxidants? **Nutrition Reviews**, v. 55, n. 11, p. 396–398, 1997.

DUTRA, F. L. G.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RIBANI, M. Determinação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência isocrática durante estacionamento da erva-mate. **Química Nova**, v. 33, n.1, p. 119-123, 2010.

EMBRAPA, (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA). Cultivo da Erva-Mate. **Cultivo da Erva-Mate**. 2nd ed., p.1–55, 2014. Embrapa Florestas - Sistemas de Produção. Disponível em: <<https://www.spo.cnptia.embrapa.br/temas-publicados>>. Acesso em: 17/3/2015.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. DE. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 199–204, 2002.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERREIRA, R. R. Obtenção de Extrato Aquoso de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) Clarificado por Ultrafiltração. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2014.

FIELD, R. W.; WU, D.; HOWELL, J. A.; GUPTA, B. B. Critical flux concept for microfiltration fouling. **Journal of Membrane Science**, v. 100, n. 3, p. 259–272, 1995.

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 774–778, 2001.

FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSEN, L. B. **Princípios das Operações Unitárias**. 2ª edição. Rio de Janeiro: LTC, 1982.

FRIZON, C. N. T. **Propriedades Físico-químicas, Sensoriais e Estabilidade de uma Nova Bebida Contendo Extrato de Erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e Soja (*Glycine max*)**. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2011.

GIULIAN, R.; SANTOS, C. E. I.; SHUBEITA, S. M.; SILVA, L. M.; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L. Elemental characterization of commercial mate tea leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) before and after hot water infusion using ion beam techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 741–746, 2007.

GOSMANN, G.; BARLETTE, A. G.; DHAMER, T.; ARÇARI, D. P.; SANTOS, J. C.; CAMARGO, E. R.; ACEDO, S.; GAMBERO, A.; GNOATTO, S. C. B.; RIBEIRO, M. L. Phenolic compounds from maté (*Ilex paraguariensis*) inhibit adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 156-161, 2012.

GUGLIUCCI, A.; BASTOS, D. H. M. Chlorogenic acid protects paraoxonase 1 activity in high density lipoprotein from inactivation caused by physiological concentrations of hypochlorite. **Fitoterapia**, v. 80, n. 2, p. 138–142, 2009.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de Separação por Membranas**. 1ª edição. Rio de Janeiro: E-papers, 2006.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. DE. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, p. 138-151, 2007.

HECK, C. I.; SCHMALKO, M.; MEJIA, E. G. Effect of Growing and Drying Conditions on the Phenolic Composition of Mate Teas ( *Ilex paraguariensis* ). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8394–8403, 2008.

HELDMAN, D. R.; LUND, D. B. **Handbook of Food Engineering**. 2ª edição. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2007. 1040 p.

HERMIA, J. Constant pressure blocking filtration laws - application to power-law non-Newtonian fluids. **Transactions of the Institution of Chemical Engineers**, v. 60, p. 183–187, 1982.

IBARZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Unit Operations in Food Engineering**. New York: CRC Press, 2003. 889 p.

IBGE, (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). SIDRA – Sistema IBGE de Recuperação Automática: Agricultura. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=1&u3=5&u4=1&u5=1&u6=1&u2=1>>. Acesso em: 17/3/2015.

INC, I. Membrane technology benefits the food processing industry. **Filtration and Separation**, v. 41, n. 8, p. 32–33, 2004.

ISOLABELLA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ, P.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Study of the bioactive compounds variation during the yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, v. 122, p. 695-699, 2010.

JENSEN, S.; ZANOELO, É. F. Kinetics of aqueous extraction of mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Journal of Food Process Engineering**, v. 36, n. 2, p. 220–227, 2012.

KAWAKAMI, M.; KOBAYASHI, A. Volatile Constituents of Green Mate and Roasted Mate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 7, p. 1275–1279, 1991.

LAORKO, A.; TONGCHITPAKDEE, S.; YOURAVONG, W. Storage quality of pineapple juice non-thermally pasteurized and clarified by microfiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 554–561, 2013.

LEHMBERG, G. L.; SPISAK, M. J.; GOBBO, S. A.; KEMLY-ELLINGHAM, M. M. **Tea Concentrate**. US6413570 B1. 9 fev. 2000, 2 jul. 2002. Disponível em: <<http://www.google.com/patents/US6413570>>. Acesso em: 27/01/2016.

LIANG, Y.; XU, Y. Effect of pH on cream particle formation and solids extraction yield of black tea. **Food Chemistry**, v. 74, p. 155-160, 2001.

LINARES, A. R.; HASE, S. L.; VERGARA, M. L.; RESNIK, S. L. Modeling yerba mate aqueous extraction kinetics: Influence of temperature. **Journal of Food Engineering**, v. 97, n. 4, p. 471–477, 2010.

MACCARI JUNIOR, A. **Análise do pré-processamento da erva-mate PARA chimarrão**. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

MARQUES, V.; FARAH, A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1370–1376, 2009.

MAZUR, L.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; DEMCZUK JR., B.; RIBANI, R. H. Application of multivariate calibration and NIR spectroscopy for the quantification of methylxanthines in yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 35, p. 55-60, 2014.

MEINHART, A. D.; BIZZOTO, C. S.; BALLUS, C.A; RYBKA, A. C. P.; SOBRINHO, M. R.; CERRO-QUINTANA, R. S.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H. T. Methylxanthines and phenolic content extracted during the consumption of mate (*Ilex paraguariensis* st. hil) beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 2188-2193, 2010.

MEULLEMIESTRE, A.; PETITCOLAS, E.; MAACHE-REZZOUG, Z.; CHEMAT, F.; REZZOUG, S. A. Impact of ultrasound on solid-liquida extraction of phenolic compounds from maritime pine sawdust waste. Kinetics, optimization and large scale experiments. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 28, p. 230-239, 2015.

MERIN, U.; DAUFIN, G. Crossflow microfiltration in the dairy industry: state-of-the-art. **Lait**, v. 70, p. 281-290, 1990.

MOHAMMAD, A. W.; NG, C. Y.; LIM, Y. P.; NG, G. H. Ultrafiltration in Food Processing Industry: Review on Application, Membrane Fouling, and Fouling Control. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 4, p. 1143–1156, 2012.

MULDER, M.H.V. Polarization phenomena and membrane fouling. In: NOBLE, R. D.; STERN, S. A. (Ed.). **Membrane Separations Technology**. Amsterdã: Elsevier: 1995. p. 45-84.

PEREIRA, D. F.; KAPPEL, V. D.; CAZAROLLI, L. H.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; GUESSER, S. M.; DA SILVA, E. L.; SILVA, F. R. M. B. Influence of the brazilian drink *Ilex paraguariensis* tea on glucose homeostasis. **Phytomedicine**, v. 19, p. 868-877, 2012.

PERES, R. G.; TONIN, F. G.; TAVARES, M. F. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. HPLC-DAD-ESI/MS identification and quantification of phenolic compounds in ilex paraguariensis beverages and on-line evaluation of individual antioxidant activity. **Molecules**, v. 18, n. 4, p. 3859–3871, 2013.

PESSOA JÚNIOR, A.; KILIKIAN, B. V. **Purificação de Produtos Biotecnológicos**. Barueri, SP: Manole, 2005. 444 p.

PIN, K. Y.; CHUAN, A. L.; RASHIH, A. A.; RASADAH, M. A.; LAW, C. L.; CHOONG, T. S. Y. Solid-liquid extraction of betel leaves (*Piper betle* L.). **Journal of Food Process Engineering**, v. 34, p. 549-565, 2009.

PRICE, W.; SPITZER, J. The temperature dependence of the rate of extraction of soluble constituents of black tea. **Food Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 133–136, 1993.

PRUDÊNCIO, A. P. A.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C.; MURAKAMI, A. N. N.; MARASCHIN, M.; PETRUS, J. C. C.; OGLIARI, P. J.; LEITE, R. S. Phenolic composition and antioxidant activity of the aqueous extract of bark from residues from mate tree (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) bark harvesting concentrated by nanofiltration. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 3, p. 399–405, 2012.

RADHA KRISHNAN, K.; SIVARAJAN, M.; BABUSKIN, S.; ARCHANA, G.; BABU, P. A. S.; SUKUMAR, M. Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 3, p. 326–332, 2013.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RIBANI, R. H. **Compostos Fenólicos em Erva-mate e Frutas**. Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2006.

RIBEIRO, B. D.; COELHO, M. A. Z.; REBELO, L. P. N.; MARRUCHO, I. M. Ionic liquids as additives for extraction of saponins and polyphenols from mate (*ilex paraguariensis*) and tea (*camellia sinensis*). **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 34, p. 12146–12153, 2013.

RICHARDSON J. F., HARKER J. H., BACKHURST J. R. **Coulson and Richardson's: Chemical Engineering**. 5ª edição. Butterworth-Heinemann, 2002. v. 2. 1183 p.



RIPPERGER, S.; ALTMANN, J. Crossflow microfiltration - state of the art. **Separation and Purification Technology**, v. 26, p. 19–31, 2002.

RIZZO, M.; VENTRICE, D.; VARONE, M. A.; SIDARI, R.; CARIDI, A. HPLC determination of phenolic adsorbed on yeasts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 42, p. 46-55, 2006.

ROBBINS, R. J. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51. p. 2866-2887, 2003.

ROCHA JÚNIOR, W. F. **Análise do agronegócio da erva-mate com enfoque da nova economia institucional e o uso da matriz estrutural prospectiva**. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

RUCKER, N. DE A.; SOUZA, L. R.; TETTO, A. F.; MAZUCHOWSKI, J. Z.; MAZZAROTTO, M. Erva-Mate: Prospecção Tecnológica de Mercado. Período: 2011 até 2020. **Secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento do Paraná**, p. 1–7, 2010.

SABBATELLA, O. P.; POKOLENKO, J. J.; SCHMALKO, M. E. Influencia de la composición en la extracción de los solubles de la yerba mate. **Ciência e Tecnologia**, n. 11, p. 42–47, 2009.

SAMBIASSI, C.; ESCALADA, A. M.; SCHMALKO, M. E. Extraction optimization of soluble compounds of yerba maté. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 2, p. 189–193, 2002.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 45, n. 4, p. 287–306, 2005.

SEAB, (SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO). Produtos Florestais – Erva-mate (2014). Disponível em: <[http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/erva\\_mate\\_2014\\_2015.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/erva_mate_2014_2015.pdf)>. Acesso em: 10/03/2016.

SEADER, J. D.; HENLEY, E. J.; ROPER, D. K. **Separation Process Principles: Chemical and Biochemical Operations**. 3ª edição. Estados Unidos: John Wiley & Sons, 2010. 848 p.

SETYANINGSIH, W.; SAPUTRO, I. E.; PALMA, M; BARROSO, C. G. Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from rice (*Oryza sativa*) grains. **Food Chemistry**, v. 192, p. 452-459, 2015.

SIEBERT, K. J. Haze in Beverages. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 57, p. 53-86, 2009.

SILVA, D. J. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. Viçosa: UFV, 2002. 235 p.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª edição. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004. 1102 p.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SONG, F. L.; GAN, R. Y.; ZHANG, Y. XIAO, Q.; KUANG, L. LI, H. B.. Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected chinese medicinal plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 6, p. 2362–2372, 2010.

SOUZA, A. H. P.; CORREA, R. C. G.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; SANTOS-BUELGA, C.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A.; MATSUSHITA, M.; FERREIRA, I. C. F. R. Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: an in-vitro comparative study between the whole plant, leaves and stems. **Food Research International**, v. 78, p. 286-294, 2015.

SUBRAMANIAN, R.; CHANDINI, S. K.; SHARMA, P. Membrane Clarification of Tea Extracts. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, p. 1151–1157, 2014.

TODISCO, S.; TALLARICO, P.; GUPTA, B. B. Mass transfer and polyphenols retention in the clarification of black tea with ceramic membranes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 3, n. 3, p. 255–262, 2002.

TOLEDO, R. T. **Fundamentals of food process engineering**. 3ª edição. New York: Springer, 2007.

TORUN, M.; DINCER, C.; TOPUZ, A.; SAHIN-NADEEM, H.; OZDEMIR, F. Aqueous extraction kinetics of soluble solids, phenolics and flavonoids from sage (*Salvia fruticosa* Miller) leaves. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 2797–2805, 2014.

USHIKUBO, F. Y.; WATANABE, A. P.; VIOTTO, L. A. Microfiltration of umbu (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) juice using polypropylene membrane. **Desalination**, v. 200, p. 549–551, 2006.

VALDUGA, E.; FREITAS, R. J. S.; REISSMANN, C. B.; NAKASHIMA, T. Caracterização química da folha de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Erva-mate) e de outras espécies utilizadas na adulteração do mate. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 15, n. 1, p. 25–36, 1997.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Não-Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010.

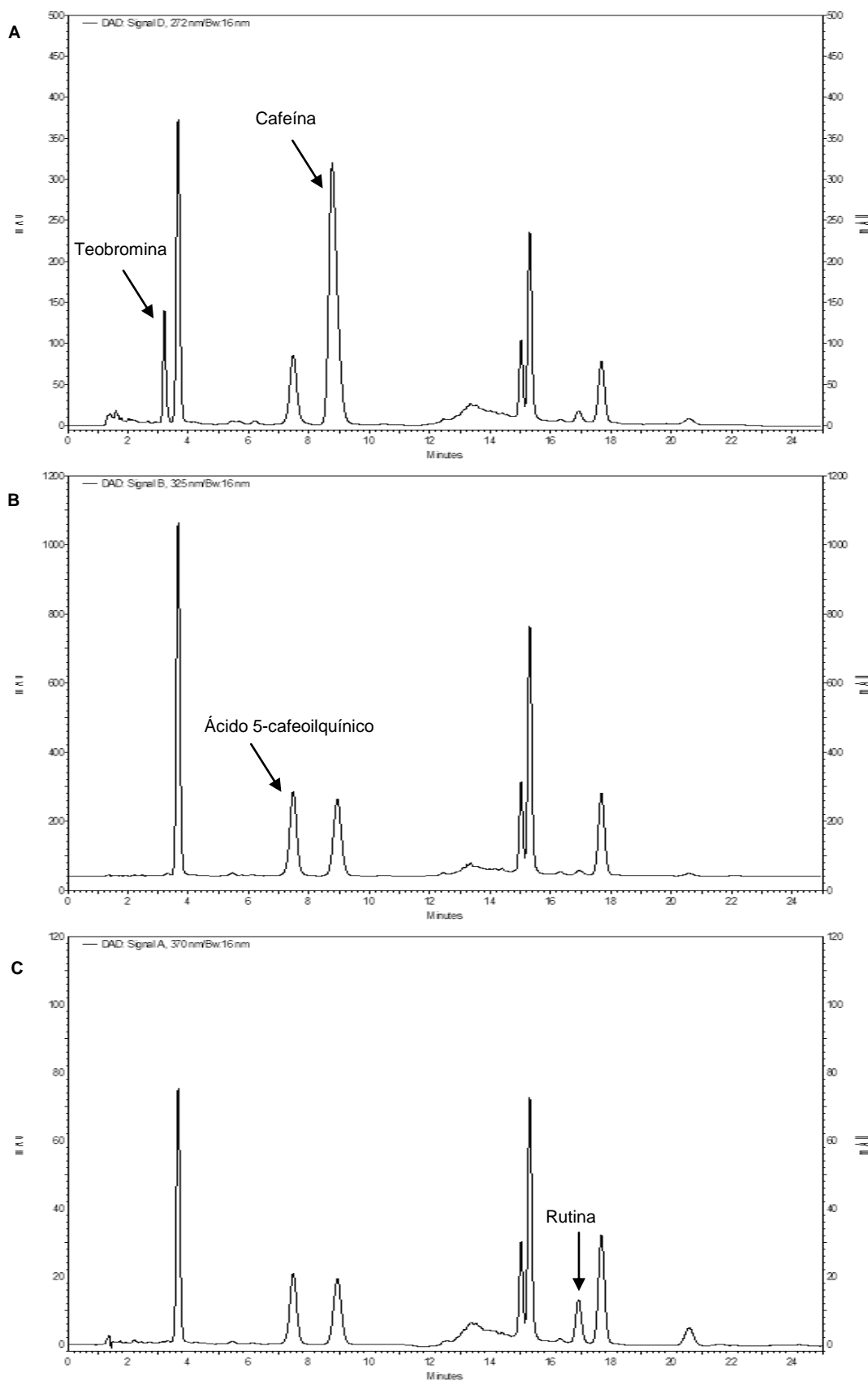
VENTURINI FILHO, W. G. **Indústria de Bebidas: Inovação, Gestão e Produção**. 1ª edição. São Paulo: Blucher, 2011.

VENTURINI FILHO, W. G.; DORNIER, M.; BELLEVILLE, M. P. Tangential microfiltration of orange juice in bench pilot. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 330–336, 2003.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening Primrose Meal: A Source of Natural Antioxidants and Scavenger of Hydrogen Peroxide and Oxygen-Derived Free Radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1801–1812, 1999.

## APÊNDICES

### APÊNDICE 1 – CROMATOGRAMAS DO EXTRATO AQUOSO DE ERVA-MATE MONITORADOS A 272 nm (A), 325 nm (B) E 370 nm (C).



**APÊNDICE 2 – CONCENTRAÇÃO DO TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS (RESÍDUO SECO) E FENÓLICOS TOTAIS AO LONGO DO TEMPO NAS DIFERENTES CONDIÇÕES DETERMINADAS PELO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

CONDIÇÃO	TEMPO (min)	SÓLIDOS TOTAIS (g.100g <sup>-1</sup> )		FENÓLICOS TOTAIS (mg 5-CQAE.L <sup>-1</sup> )	
		Cancheada	Moída	Cancheada	Moída
20°C 0 rpm	3	0,19±0,04 <sup>e</sup>	1,51±0,15 <sup>a</sup>	1223,27±61,72 <sup>f</sup>	6202,18±66,86 <sup>b</sup>
	10	0,49±0,01 <sup>d</sup>	1,50±0,12 <sup>a</sup>	2795,69±41,15 <sup>e</sup>	6658,07±360,03 <sup>bc</sup>
	20	0,71±0,10 <sup>c</sup>	1,45±0,04 <sup>a</sup>	3654,00±185,16 <sup>d</sup>	6818,10±133,73 <sup>ab</sup>
	30	0,82±0,01 <sup>c</sup>	1,47±0,06 <sup>a</sup>	4301,37±72,00 <sup>c</sup>	6825,37±41,15 <sup>ab</sup>
	60	1,04±0,04 <sup>b</sup>	1,58±0,17 <sup>a</sup>	5683,39±174,87 <sup>b</sup>	7174,51±144,01 <sup>ac</sup>
	120	1,20±0,05 <sup>ab</sup>	1,48±0,02 <sup>a</sup>	6978,12±72,01 <sup>a</sup>	7523,65±226,31 <sup>a</sup>
	180	1,32±0,01 <sup>a</sup>	1,50±0,02 <sup>a</sup>	7334,53±164,59 <sup>a</sup>	7072,68±61,72 <sup>ac</sup>
20°C 400 rpm	3	0,56±0,11 <sup>e</sup>	1,54±0,08 <sup>a</sup>	2722,96±102,87 <sup>e</sup>	7436,37±144,01 <sup>a</sup>
	10	0,80±0,17 <sup>de</sup>	1,54±0,06 <sup>a</sup>	3784,93±41,15 <sup>d</sup>	7429,10±257,17 <sup>a</sup>
	20	0,95±0,10 <sup>cd</sup>	1,60±0,01 <sup>a</sup>	4810,53±133,73 <sup>c</sup>	7414,55±154,30 <sup>a</sup>
	30	1,05±0,09 <sup>bcd</sup>	1,60±0,01 <sup>a</sup>	5414,25±205,73 <sup>c</sup>	7589,12±30,86 <sup>a</sup>
	60	1,20±0,07 <sup>ac</sup>	1,62±0,01 <sup>a</sup>	6250,74±360,03 <sup>b</sup>	7385,45±72,01 <sup>a</sup>
	120	1,36±0,07 <sup>ab</sup>	1,61±0,00 <sup>a</sup>	7101,77±123,44 <sup>a</sup>	7501,83±72,01 <sup>a</sup>
	180	1,45±0,03 <sup>a</sup>	1,63±0,06 <sup>a</sup>	7450,92±102,87 <sup>a</sup>	7618,21±216,02 <sup>a</sup>
80°C 0 rpm	3	0,94±0,14 <sup>c</sup>	1,73±0,05 <sup>b</sup>	4926,91±133,73 <sup>f</sup>	8294,68±61,72 <sup>a</sup>
	10	1,11±0,01 <sup>c</sup>	1,75±0,10 <sup>b</sup>	6818,10±72,00 <sup>e</sup>	8178,30±226,31 <sup>a</sup>
	20	1,38±0,01 <sup>b</sup>	1,75±0,03 <sup>b</sup>	7974,63±123,44 <sup>d</sup>	8440,15±267,45 <sup>a</sup>
	30	1,45±0,07 <sup>b</sup>	1,84±0,06 <sup>b</sup>	8745,65±185,16 <sup>c</sup>	8629,27±226,31 <sup>a</sup>
	60	1,59±0,04 <sup>ab</sup>	1,72±0,09 <sup>b</sup>	9931,28±195,45 <sup>b</sup>	8752,92±72,01 <sup>a</sup>
	120	1,76±0,01 <sup>a</sup>	1,82±0,04 <sup>b</sup>	10833,23±154,30 <sup>a</sup>	8840,21±10,29 <sup>a</sup>
	180	1,75±0,02 <sup>a</sup>	2,14±0,10 <sup>a</sup>	10695,02±144,01 <sup>a</sup>	8651,09±318,89 <sup>a</sup>
80°C 400 rpm	3	1,03±0,02 <sup>f</sup>	1,82±0,03 <sup>c</sup>	5414,23±205,73 <sup>e</sup>	8891,13±102,87 <sup>b</sup>
	10	1,32±0,01 <sup>e</sup>	1,81±0,05 <sup>c</sup>	6941,75±308,60 <sup>d</sup>	8949,32±102,87 <sup>b</sup>
	20	1,49±0,01 <sup>d</sup>	1,84±0,01 <sup>bc</sup>	8323,77±205,73 <sup>c</sup>	9371,20±226,31 <sup>ab</sup>
	30	1,50±0,02 <sup>d</sup>	1,86±0,05 <sup>bc</sup>	8738,38±174,87 <sup>c</sup>	9145,71±92,58 <sup>ab</sup>
	60	1,73±0,05 <sup>c</sup>	1,92±0,03 <sup>bc</sup>	10018,56±277,74 <sup>b</sup>	9298,46±41,15 <sup>ab</sup>
	120	1,87±0,06 <sup>b</sup>	2,00±0,06 <sup>ab</sup>	10927,79±226,31 <sup>a</sup>	9385,74±267,45 <sup>ab</sup>
	180	2,02±0,02 <sup>a</sup>	2,10±0,05 <sup>a</sup>	10731,39±82,58 <sup>ab</sup>	9603,96±41,15 <sup>a</sup>
50°C 200 rpm	3	0,66±0,01 <sup>f</sup>	1,77±0,03 <sup>a</sup>	3959,50±205,73 <sup>e</sup>	7996,45±257,17 <sup>a</sup>
	10	0,95±0,01 <sup>e</sup>	1,68±0,06 <sup>a</sup>	5632,47±102,87 <sup>d</sup>	8243,76±154,30 <sup>a</sup>
	20	1,15±0,04 <sup>d</sup>	1,81±0,01 <sup>a</sup>	6658,07±92,58 <sup>c</sup>	8200,12±257,17 <sup>a</sup>
	30	1,24±0,01 <sup>d</sup>	1,67±0,09 <sup>a</sup>	7101,77±123,44 <sup>c</sup>	7960,10±432,04 <sup>a</sup>
	60	1,37±0,01 <sup>c</sup>	1,80±0,01 <sup>a</sup>	8432,88±51,43 <sup>b</sup>	8214,66±133,73 <sup>a</sup>
	120	1,49±0,04 <sup>b</sup>	1,81±0,01 <sup>a</sup>	9058,42±92,58 <sup>a</sup>	8687,46±20,57 <sup>a</sup>
	180	1,59±0,02 <sup>a</sup>	1,82±0,10 <sup>a</sup>	8992,96±288,03 <sup>ab</sup>	8192,84±185,16 <sup>a</sup>

Letras iguais nas colunas na mesma condição indicam médias iguais pelo teste de Tukey (p<0,05).